

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Ingeniería Química

**INCORPORACIÓN DE BACTERIÓFAGOS EN FIBRAS DE
POLIETILENGLICOL (PEG) ENVUELTAS EN FIBRAS DE
MEZCLAS DE ÁCIDO POLILÁCTICO-POLIETILENGLICOL
(PLA/PEG) POR ELECTROHILADO COAXIAL**



Memoria y Anexos

Autor:	Alicia Díaz Suarez
Director:	Aureli Calvet Tarragona
Co-Director:	Luís Javier Del Valle Mendoza
Co-Director:	Jordi Puiggalí Bellalta
Convocatoria:	Mayo 2018

Resumen

En este proyecto se ha estudiado el encapsulamiento de bacteriófagos específicos del *Staphylococcus aureus* en *scaffolds* constituidos por microfibras coaxiales de dos polímeros biodegradables de diferentes hidrofobicidades: el polietilenglicol (PEG, hidrofílico) y el ácido poliláctico (PLA, hidrofóbico). Las fibras coaxiales se han obtenido mediante la técnica de *electrospinning* coaxial, la cual permite estructurar las fibras con un núcleo (*core*) y una cubierta (*shell*). El núcleo estará constituido por el polímero hidrofílico (PEG), donde se incorporarán los bacteriófagos, y la cubierta por el polímero hidrofóbico, PLA, o una mezcla de ambos polímeros, PLA+PEG.

En primer lugar, se ha optimizado el núcleo y la cubierta de las fibras coaxiales por la técnica convencional. En segundo lugar, se ha optimizado las fibras coaxiales utilizando como punto de partida las condiciones del electrohilado uniaxial por *electrospinning* coaxial. Y, en tercer lugar, se ha preparado las fibras coaxiales como medio de encapsulamiento de los bacteriófagos.

La optimización de las fibras coaxiales, con y sin fagos incorporados, se ha realizado mediante microscopía óptica (OM) y el análisis de la morfología y de los diámetros por microscopía electrónica de barrido (SEM). También, se ha estudiado la estabilidad de las matrices, con y sin fagos, después de sumergirlas en agua y eliminar el PEG (polímero de sacrificio) de las fibras. Los cambios morfológicos y del diámetro de las fibras se han observado y obtenido mediante SEM y el análisis cualitativo de la pérdida de PEG mediante FTIR. Finalmente, se ha evaluado la liberación de los fagos, desde las matrices, a diferentes horas y la inhibición que provocan en el crecimiento bacteriano al ponerlas en contacto con un caldo de cultivo.

Resum

En aquest projecte s'ha estudiat l'encapsulament de bacteriòfags específics del *Staphylococcus aureus* en scaffolds constituïts per microfibres coaxials de dos polímers biodegradables de diferents hidrofobicitats: el polietilenglicol (PEG, hidrofílic) i l'àcid polilàctic (PLA; hidrofòbic). Les fibres coaxials s'han obtingut mitjançant la tècnica de *electrospinning* coaxial, la qual permet estructurar les fibres amb un nucli (*core*) y una coberta (*shell*). El nucli estarà constituït pel polímer hidrofílic (PEG), on s'incorporaran els bacteriòfags, i la coberta pel polímer hidrofòbic, PLA, o una mescla d'ambdós polímers, PLA+PEG.

En primer lloc, s'ha optimitzat el nucli i la coberta de les fibres coaxials per la tècnica convencional. En segon lloc, s'ha optimitzat les fibres coaxials utilitzant com a punt de partida les condicions de l'electrohilat uniaxial per *electrospinning* coaxial. I, en tercer lloc, s'han preparat les fibres coaxials com a medi d'encapsulament dels bacteriòfags.

L'optimització de les fibres coaxial, amb i sense bacteriòfags incorporats, s'ha realitzat mitjançant microscòpia òptica (OM) i l'anàlisi morfològic i dels diàmetres per microscòpia electrònica d'escombrat (SEM). També, s'ha estudiat l'estabilitat de les matrius, amb i sense bacteriòfags, després de submergir-les en aigua i eliminar el PEG (polímer de sacrifici) de les fibres. Els canvis morfològics i del diàmetre de les fibres s'han observat i obtingut mitjançant SEM i l'anàlisi qualitatiu de la pèrdua de PEG mitjançant FTIR. Finalment, s'ha avaluat l'alliberació de bacteriòfags, des de les matrius, a diferents hores i la inhibició que provoquen en el creixement bacterià al posar-les en contacte amb un brou de cultiu.

Abstract

In this project the encapsulation of specific bacteriophages of *Staphylococcus aureus* has been studied in scaffolds constituted by coaxial microfibers of two biodegradable polymers of different hydrophobicities: poly(ethylene glycol) (PEG, hydrophilic) and polylactide (PLA, hydrophobic). The coaxial fibers have been obtained through the coaxial electrospinning technique, which allows to structure the fibers with a core and a shell. The core will be constituted by the hydrophilic polymer (PEG), where the bacteriophages will be incorporated, and the shell by the hydrophobic polymer, PLA, or a mixture of both polymers, PLA+PEG.

First of all, the core and the cover of the coaxial fibers have been optimized by the conventional technique. Secondly, the coaxial fibers have been optimized by coaxial electrospinning, where the conditions of the uniaxial electrospinning have been used as a starting point. And third, the coaxial fibers have been prepared as the encapsulation medium of the bacteriophages.

The optimization of the coaxial fibers, with and without incorporated phage, has been carried out by optical microscopy (OM) and the analysis of the morphology and diameters by scanning electron microscopy (SEM). Also, the stability of the scaffolds, with and without phages, has been studied after immersing them in water and removing the PEG (sacrificial polymer) from the fibers. The morphological and fiber diameter changes have been observed and obtained by SEM and the qualitative analysis of PEG loss by FTIR. Finally, the release of the phages from the scaffolds at different times and the inhibition that they caused in the bacterial growth when being put in contact with a breeding ground has been evaluated.



Agradecimientos

Este trabajo es el resultado de muchas personas, a las cuales quiero darles mi más sincero agradecimiento.

A mi padre, Iván Díaz, por enseñarme que no hay batalla perdida si se lucha hasta el final. Gracias por enorgullecerte siempre de mí y alentarme a superarme día tras día. Este proyecto te lo dedico especialmente a ti.

A mi madre, Alicia Suarez, por ser el pilar fundamental de mi vida y mi fuente de inspiración. Gracias por tu amor y apoyo incondicional, sin ellos nada de esto habría sido posible.

A mi hermano, Iván Díaz, por ser un ejemplo de que no existe dificultad en la vida que no se pueda superar con perseverancia y esfuerzo. Gracias por motivarme y creer en mí.

A mi hermana, Karelía Díaz, por enseñarme a ver el lado bueno de las cosas y estar siempre para mí. Gracias por tu fortaleza y confianza inquebrantable.

A mi abuela, Delia Navarro, por ser mi segunda madre y transmitirme su orgullo constante. Gracias por no dudar nunca de mí.

A mi compañero y amigo, Carlo Ascón, por ayudarme a sobrellevar las diferentes complicaciones que han surgido a lo largo del proyecto y hacer más amenos los días de intenso laboratorio. Ha sido un placer compartir contigo esta última etapa de la carrera.

A mi tutor, Aureli Calvet, por darme la oportunidad de realizar este proyecto bajo su tutoría y mostrarse siempre disponible para ayudarme ante cualquier duda o problema que surgiera.

A mi co-tutor, Jordi Puiggalí, por ofrecerme este maravilloso proyecto y darme la oportunidad de aprender a desenvolverse con soltura en los laboratorios del departamento de IMEM/PSEP.

A mi co-tutor, Luís Javier del Valle, por introducirme en el fascinante mundo del *electrospinning* y, sobre todo, por enriquecerme con sus conocimientos. Sin tu optimismo y generosidad de principio a fin no habría sido posible la realización de este proyecto.



Glosario

DCM: Diclorometano

DMF: Dimetilformamida

DPLA: Ácido poli-D-láctico

DLPLA: Ácido poli-DL-láctico

FTIR: Espectroscopia de Infrarrojo de Transformada de Fourier

LPLA: Ácido poli-L-láctico

OM: Microscopia Óptica

PBS: Tampón fosfato salino

PLA: Ácido poliláctico

PEG: Polietilenglicol

SEM: Microscopia Electrónica de Barrido

TFG: Trabajo final de grado

UCR: Unidad constitucional repetida

UFC: Unidades formadoras de colonias

Índice

RESUMEN	I
RESUM	II
ABSTRACT	III
AGRADECIMIENTOS	V
GLOSARIO	VII
1. OBJETIVOS	1
1.1. Objetivo general del trabajo	1
1.2. Objetivos específicos del trabajo	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. Polímeros biodegradables	3
2.1.1. Generalidades	3
2.1.2. Mecanismos de degradación	4
2.1.3. Clasificación de los polímeros biodegradables	7
2.1.4. Ácido poliláctico (PLA)	7
2.1.5. Polietilenglicol (PEG)	10
2.2. Aplicaciones biomédicas de los polímeros biodegradables	12
2.2.1. Generalidades	12
2.2.2. Aplicaciones permanentes dentro del organismo	12
2.2.3. Aplicaciones temporales dentro del organismo	13
2.2.4. Ingeniería de tejidos	14
2.3. Electrospinning	15
2.3.1. Principios de la técnica	15
2.3.2. Parámetros de la técnica	17
2.3.3. Aplicaciones generales de la técnica	20
2.4. Electrospinning coaxial	20
2.4.1. Principios de la técnica	20
2.4.2. Parámetros de la técnica	22
2.4.3. Aplicaciones biomédicas del electrospinning coaxial	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. Reactivos	25

3.2.	Material de laboratorio	25
3.3.	Preparación de la disolución polimérica de PLA, PEG y PLA/PEG.....	26
3.4.	Electrospinning coaxial	26
3.5.	Morfología y diámetro de las fibras	28
3.5.1.	Microscopia óptica (OM)	28
3.5.2.	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	29
3.6.	Pérdida de masa por remoción del PEG.....	30
3.7.	Espectrómetro IR	31
3.8.	Estudio cualitativo de la actividad de los bacteriófagos	32
3.8.1.	Incorporación de bacteriófagos en fibras de PEG.....	32
3.8.2.	Método cualitativo de la viabilidad de los bacteriófagos	32
3.9.	Incorporación y liberación de bacteriófagos encapsulados en fibras coaxiales	33
3.10.	Cultivo bacteriano.....	34
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1.	Electrohilado uniaxial del núcleo y de la cubierta de la fibra coaxial	37
4.1.1.	Electrohilado de fibras constituidas de PEG.....	38
4.1.2.	Electrohilado uniaxial de fibras constituidas por una mezcla de PLA+PEG	41
4.2.	Fibras coaxiales constituidas por un núcleo de PEG y una cubierta de PLA o una mezcla de PLA+PEG	46
4.2.1.	Condiciones operacionales para la obtención de fibras coaxiales	46
4.2.2.	Morfología y diámetro de las fibras coaxiales	48
4.2.3.	Estudio de la estabilidad de las fibras por remoción del PEG.....	52
4.3.	Encapsulación de bacteriófagos en fibras coaxiales constituidas por un núcleo de PEG y una cubierta de PLA o una mezcla de PLA+PEG	58
4.3.1.	Morfología y diámetro de las fibras coaxiales	59
4.3.2.	Estudio de la estabilidad de las fibras por remoción del PEG.....	62
4.4.	Análisis de las fibras coaxiales mediante FT-IR	66
4.5.	Inhibición del crecimiento bacteriano por la liberación de bacteriófagos desde fibras coaxiales.....	70
	CONCLUSIONES	73
5.	ANÁLISIS DEL IMPACTO AMBIENTAL	75
6.	ANÁLISIS ECONÓMICO	79
6.1.	Coste de disolventes y productos químicos.....	79

6.2. Coste de personal	80
6.3. Coste de los equipos y materiales	80
6.4. Otros costes asociados.....	81
BIBLIOGRAFÍA	83
ANEXO A	87
Anexo A.1 – Acetona.....	87
Anexo A.2 – Cloroformo	104
Anexo A.3 – PEG10000	117
Anexo A.4 – PEG35000	123
Anexo A.4 – PLA	129
Anexo A.5 – BHI	135
Anexo A.6 – PBS	142
Anexo A.6 – Staphylococcus aureus.....	148

Índice de figuras

Figura 2-1 Unidad constitucional repetitiva del ácido poliláctico [8].	8
Figura 2-2 Estructura de los isómeros ópticos: ácido L-láctico (levógiro) y ácido D-láctico (dextrógiro)[9].	8
Figura 2-3 Obtención de L-PLA a partir del isómero ácido L-láctico mediante ROP [8].	9
Figura 2-4 Representación de Fischer de los diastereoisómeros D-lactida, L-lactida y D,L-lactida, respectivamente [9].	9
Figura 2-5 Unidad constitucional repetitiva del polietilenglicol.	10
Figura 2-6 Obtención del polietilenglicol mediante la polimerización del óxido de etileno.	11
Figura 2-7 Scaffold desarrollado por la Ingeniería de tejidos.	15
Figura 2-8 Diagrama de un equipo de electrospinning [35].	16
Figura 2-9 Deformación de la gota como consecuencia de la tensión superficial y las cargas electrostáticas.	16
Figura 2-10 Diagrama de un equipo de electrospinnig coaxial en posición vertical [35].	21
Figura 2-11 Deformación de la gota hasta generar el cono de Taylor coaxial [52].	21
Figura 3-1 Equipo de electrospinning coaxial.	26
Figura 3-2 Microscopio óptico (OM).	28
Figura 3-3 Microscopio electrónico de barrido (SEM).	29
Figura 3-4 Dispositivo de recubrimiento.	30
Figura 3-5 Equipo de espectroscopia de infrarrojo (IR).	31
Figura 3-6 Representación de la realización de las 11 diluciones seriadas de cada matriz.	33
Figura 3-7 Equipo lector de multiplacas.	34
Figura 4-1 Defectos observados con el OM durante los diferentes ensayos realizados.	38
Figura 4-2 Fotografía de las fibras de PEG, en sus condiciones más idóneas, realizada con el OM.	41
Figura 4-3 Fotografías obtenidas con el OM de las mezclas 9/1 (a), 8/2 (b), 7/3 (c) y 5/5 (d) en sus condiciones más idóneas.	44
Figura 4-4 Morfología antes (a) y después (b) de la inmersión en agua de las fibras uniaxiales PLA+PEG 7/3.	45
Figura 4-5 Morfología y la distribución de los diámetros de las fibras uniaxiales PLA+PEG 7/3.	45

Figura 4-6 Fotografías obtenidas con el OM de las matrices PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 2,5 mL/h y (d) 5 mL/h. _____	48
Figura 4-7 Características morfológicas más representativas observadas con el SEM de las matrices PEG/PLA, (a)-(b) 2,5 mL/h y (c)-(d) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (e)-(f) 2,5 mL/h y (g)-(h) 5 mL/h. _____	49
Figura 4-8 Morfología y distribución de diámetros de las fibras PEG/PLA, (a) a 2,5 mL/h y (b) a 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) a 2,5 mL/h y (d) a 5 mL/h. _____	50
Figura 4-9 Relación entre del porcentaje de PEG removido y la fracción másica de PEG en ambas matrices. _____	53
Figura 4-10 Morfología de las matrices PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 2,5 mL/h y (d) 5 mL/h, después de la inmersión en agua. _____	54
Figura 4-11 Morfología y distribución de diámetros después de la inmersión en agua de las fibras coaxiales PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 2,5 mL/h y (d) 5 mL/h. _	56
Figura 4-12 Fotografías obtenidas con el OM de las matrices cargadas PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h. _____	59
Figura 4-13 Características morfológicas observadas con el SEM de las matrices cargadas PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c)-(d) 5 mL/h cargadas con bacteriófagos. ____	60
Figura 4-14 Morfología y distribución de diámetros de las fibras coaxiales con bacteriófagos incorporados PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h, con bacteriófagos incorporados en el núcleo de la fibra. _____	61
Figura 4-15 Relación entre del porcentaje de PEG removido y la fracción másica de PEG en ambas matrices. _____	63
Figura 4-16 Morfología de las matrices PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h, cargadas con bacteriófagos después de la inmersión en agua. _____	64
Figura 4-17 Morfología y distribución de diámetros después de la inmersión en agua de las fibras coaxiales PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h, con bacteriófagos incorporados en el núcleo de la fibras. _____	65
Figura 4-18 Espectro FTIR del PLA amorfo y el PEG35000 comercial. _____	67
Figura 4-19 Espectros FTIR de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG con y sin fagos. _____	68
Figura 4-20 Espectros FTIR de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG con y sin fagos después de la remoción del PEG. _____	69

Figura 4-21 Crecimiento bacteriano a las 4 horas de la liberación de los bacteriófagos desde las fibras coaxiales. _____ 70

Figura 4-22 Crecimiento bacteriano a las 8 horas de la liberación de los bacteriófagos desde las fibras coaxiales. _____ 71

1. Objetivos

1.1. Objetivo general del trabajo

El objetivo general de este Trabajo Final de Grado ha sido la obtención de matrices constituidas por fibras coaxiales de material polimérico mediante la técnica de *electrospinning* coaxial. El núcleo de las fibras coaxiales estará compuesto de polietilenglicol (PEG, polímero hidrofílico), y la cubierta de ácido poliláctico (PLA, polímero hidrofóbico) o una mezcla de ambos polímeros, PLA+PEG. Posteriormente, se ha utilizado las fibras coaxiales como medio de encapsulamiento de bacteriófagos, específicos del *Staphylococcus Aureus*, combinándolos con el polímero hidrofílico en el núcleo de las fibras.

1.2. Objetivos específicos del trabajo

Para el desarrollo del objetivo general de este Trabajo Final de Grado, se han establecido los siguientes objetivos específicos:

1. Establecer los parámetros operacionales más idóneos para el electrohilado de fibras de PEG y una mezcla de PLA y PEG por la técnica convencional mediante microscopía óptica.
2. Establecer los parámetros operacionales más idóneos para la obtención de fibras coaxiales, PEG/PLA y PEG/PLA+PEG, por *electrospinning* coaxial.
 - 2.1. Caracterizar morfológicamente y determinar el diámetro de las fibras producidas en condiciones más idóneas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).
 - 2.2. Evaluar los cambios morfológicos y de diámetro de las fibras coaxiales después de ponerlas en contacto con un medio hidrofílico.
3. Encapsular los bacteriófagos en las fibras coaxiales, PEG/PLA y PEG/PLA+PEG, bien estructuradas.
 - 3.1. Caracterizar morfológicamente y determinar el diámetro de las fibras producidas en condiciones más idóneas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM).
 - 3.2. Evaluar los cambios morfológicos y de diámetro de las fibras coaxiales después de ponerlas en contacto con un medio hidrofílico.
4. Analizar cualitativamente por infrarrojos (FTIR) la composición de las matrices, con y sin bacteriófagos, antes y después de la pérdida del polímero de sacrificio (PEG) por solubilización en un medio hidrofílico.
5. Estudiar la inhibición del crecimiento bacteriano al liberar los bacteriófagos encapsulados en las matrices coaxiales.

2. Introducción

2.1. Polímeros biodegradables

2.1.1. Generalidades

La introducción de nuevos materiales biodegradables ha sido el reto de las últimas décadas de la Ciencia de los Materiales, debido a que los residuos poliméricos sintéticos han aumentado considerablemente su porcentaje. Dicha ciencia tiene como finalidad última, investigar, sintetizar y desarrollar nuevas sustancias según propiedades deseadas para finalidades y aplicaciones determinadas [1].

La aportación de los nuevos materiales en aplicaciones de técnicas e instrumentación médica ha sido uno de los avances más espectaculares de los últimos tiempos. No obstante, lo que ha suscitado un gran interés práctico y ha supuesto un gran progreso en el área de la biomedicina ha sido el uso de biomateriales para fabricar sustitutos innovadores y cada vez más biocompatibles con los tejidos humanos que presentan alguna patología o lesión. Dependiendo de su origen, los biomateriales pueden ser naturales o sintéticos. Los naturales en general son materiales complejos, heterogéneos y difícilmente caracterizables y procesables. Los sintéticos pueden ser metales, cerámicas o polímeros y comúnmente se denominan materiales biomédicos. En el caso particular de los biomateriales poliméricos, se puede hacer una clasificación según el tiempo que deben mantener su funcionalidad cuando se aplican en el cuerpo humano. En otras palabras, dependiendo de si su aplicación es de carácter temporal o permanente. Los polímeros biodegradables, también conocidos como bioabsorbibles, tienen un mayor uso en las aplicaciones de carácter temporal.

El término de biodegradabilidad fue definido de forma general, por Chandra y Rustgi en 1998, como un proceso por el cual bacterias, hongos, levaduras y sus enzimas consumen una sustancia polimérica como una fuente de alimento tal que su forma original desaparece [2]. El principal requisito de los polímeros biodegradables es que contengan grupos lábiles en sus cadenas que puedan romperse fácilmente por acción de un agente externo de naturaleza física o química. Por consiguiente, la mayoría de ellos tienen, en sus cadenas poliméricas, grupos funcionales con enlaces inestables frente al ataque hidrolítico, como por ejemplo los presentes en: éster, anhídrido, amida, etc.

Dependiendo del agente externo (físico o químico), los polímeros pueden presentar modificaciones en su estructura:

1. Cambios físicos: decoloración, pérdida de brillo superficial, formación de grietas, erosión superficial, pérdida de propiedades como resistencia a la tracción o a la deformación, etc.
2. Cambios químicos: hidrólisis u oxidación de grupos funcionales, rotura de enlaces primarios en la cadena principal, cambios en sustituyentes laterales, reacciones de entrecruzamiento, etc.

La biodegradación depende de las propiedades mecánicas del polímero y de la velocidad de degradación [3].

Las propiedades mecánicas que influyen en la degradación son:

1. El tipo de naturaleza del monómero.
2. El iniciador de la reacción de polimerización.
3. Los aditivos presentes en el polímero.
4. Las condiciones de procesado.

La velocidad de degradación depende de tres factores:

1. Condiciones del medio: temperatura, humedad, pH, etc.
2. Características del polímero: presencia de enlaces químicos susceptibles a la hidrólisis, la distinta afinidad ante la polaridad de las moléculas, estereoquímica, peso molecular, superficie específica, temperatura de transición vítrea y de fusión, etc.
3. Características de los microorganismos: cantidad, variedad, fuente, actividad, etc.

2.1.2. Mecanismos de degradación

Se entiende por degradación de un polímero aquel cambio en su estructura química que conlleve una modificación apreciable de sus propiedades. En la actualidad, existen 5 principales tipos de mecanismos:

2.1.2.1. Fotodegradación

La degradación inducida por la luz en los polímeros está relacionada con los cambios producidos por la irradiación con luz visible o ultravioleta. En lo que se refiera a las aplicaciones prácticas de los polímeros, el sol es la fuente más importante. El espectro de la luz solar que penetra a la superficie de la tierra varía entre 290 y 400 nm. Por consiguiente, uno de los prerrequisitos para que ocurra fotorreacción es la absorción de luz. Los enlaces saturados como C-C o C-H, entre otros, absorben luz de longitudes de onda inferiores a 200 nm. Los grupos carbonilos y los enlaces doble C=C tienen máximos de absorción en las longitudes de onda entre 200 y 300 nm [4]. Por este motivo, sólo un pequeño número de polímeros son capaces de absorber radiación solar.

Otro prerequisite para la reacción es la energía del fotón. No obstante, la energía de la radiación es mayor a la energía de unión de los enlaces moleculares C-C y C-H por lo que rompen las cadenas moleculares reduciendo su peso molecular y sus propiedades mecánicas.

Se pueden obtener polímeros fotodegradables introduciendo en su estructura grupos funcionales sensibles a la radiación ultravioleta, como los grupos carbonilo o bien introduciendo aditivos fotosensibles, catalizadores y peroxidantes fotosensibles que aceleren el proceso de degradación [4].

2.1.2.2. Degradación mecánica

La degradación inducida mecánicamente tiene que ver con los efectos macroscópicos que llevan a la fractura y la deformación producidos por el influjo de fuerzas, así como los cambios químicos inducidos por los esfuerzos mecánicos. No parece existir un mecanismo singular de reacción química inducida por los esfuerzos que sea de aplicación general. Los mecanismos de ruptura de los enlaces dependen del estado del polímero y de la manera como se aplican los esfuerzos. Generalmente la ruptura de los enlaces ocurre cuando se concentra suficiente energía en un segmento de la macromolécula como consecuencia de una distribución no uniforme de las tensiones internas.

2.1.2.3. Degradación térmica

A elevadas temperaturas, los polímeros sufren cambios químicos sin la contribución de ningún otro factor que no sea la energía térmica. Este proceso está acompañado por la ruptura hemolítica, para generar radicales libres, de los enlaces covalentes de la cadena o de los grupos laterales como consecuencia del aumento de la temperatura. Dependiendo de la reactividad de los radicales libres originados se producirán unas reacciones u otras.

Los mecanismos esenciales de degradación tanto de la fotodegradación como de la degradación térmica se basan en los mismos principios, exceptuando la velocidad en la que se degrada el polímero. Este factor es mayor en la fotodegradación.

2.1.2.4. Degradación química

La degradación química se refiere exclusivamente a los procesos que son inducidos por el influjo de reactivos químicos (ácidos, bases, solventes, gases reactivos, etc.) que entren en contacto con los polímeros.

2.1.2.4.1 Degradación hidrolítica

La degradación hidrolítica de un polímero se produce como consecuencia del contacto con un medio acuoso. La introducción del agua en la estructura provoca el hinchamiento, la ruptura de puentes de hidrógeno intermoleculares, hidratación de las moléculas y finalmente, la hidrólisis de los enlaces inestables. Ésta última puede suceder tanto en los grupos situados en la cadena principal como en los sustituyentes laterales.

2.1.2.4.2 Degradación oxidativa

Esta degradación se produce por sustancias química oxidantes, principalmente el oxígeno (O_2) y el ozono (O_3) de la atmosfera. Ésta consiste en el ataque del oxígeno activo sobre el polímero. Tal y como ocurre en la degradación térmica, el O_2 origina radicales libres en las cadenas de polímeros, que pueden dar todo tipo de reacciones secundarias degradativas.

Para que ocurra una reacción con el O_2 debe existir un mecanismo que inicie la producción de radicales libres como la luz ultravioleta, radiación gamma, tensiones mecánicas o la acción de la electricidad. Este tipo de degradación se puede retrasar e incluso evitar por la adición de estabilizadores. Los más usados son los absorbentes de radiación ultravioleta, los antioxidantes y los enfriadores [4].

2.1.2.5. Biodegradación

La biodegradación se refiere a la transformación y deterioro que se produce en los polímeros por acción natural de los organismos vivos, principalmente microorganismos (bacterias, hongos o algas), para obtener progresivamente una estructura más simple. La biodegradación puede ser parcial o total:

1. La biodegradación parcial consiste en alteración en la estructura química del material y la pérdida de propiedades específicas.
2. La biodegradación total consiste en la degradación, prácticamente irreversible, en la cual los fragmentos de bajo peso molecular son asimilados por los microorganismos. Se puede dar en dos tipos de condiciones: aeróbicas, donde se produce dióxido de carbono (CO_2), agua (H_2O), sales minerales y biomasa; y anaeróbicas, donde se produce metano (CH_4), agua, sales minerales y biomasa.

De forma general, la biodegradación tiene lugar por vía hidrolítica y normalmente se completa con procesos enzimáticos. Los agentes biodegradativos más comunes en el organismo humano son: agua, sales (aniones y cationes), pH del medio fisiológico y agentes enzimáticos [5].

2.1.3. Clasificación de los polímeros biodegradables

Según su procedencia los polímeros biodegradables se pueden clasificar en naturales o en sintéticos [6]:

- 1 Los polímeros naturales son aquellos que provienen de recursos naturales desde el punto de vista químico. Estos se dividen en cuatro subgrupos:
 - 1.1 Polisacáridos:
 - 1.1.1 Homopolisacáridos: almidón, celulosa, quitina.
 - 1.1.2 Heteropolisacáridos: gomas naturales.
 - 1.2 Proteínas.
 - 1.3 Lípidos.
 - 1.4 Poliésteres alifáticos:
 - 1.4.1 Poliésteres producidos por microorganismos o por plantas: PHA, PHB.
 - 1.4.2 Poliésteres sintetizados a partir de monómeros biológicos: PLA.
- 2 Los polímeros sintéticos son aquellos que se obtienen a partir de fuentes fósiles/petrolíferas. Dentro de esta familia, son considerados biodegradables aquellos polímeros que exhiben degradación originada por la acción de microorganismos y agentes químicos o que exhiben degradación mecánica. Se clasifican en 6 subgrupos:
 - 2.1 Poliésteres alifáticos: PCL.
 - 2.2 Poliésteres aromáticos o mezclas de ambos.
 - 2.3 Poliamidas: Nylon 6 poliprolactama; Nylon 6,6 polihexametilendiamina adipato.
 - 2.4 Poliéteres: PEG.
 - 2.5 Polivinilalcoholes: PVOH, PEVOH.
 - 2.6 Poliolefinas modificadas: PE con almidón.

Los polímeros naturales están generalmente más asociados al término de biodegradabilidad, pero en realidad los distintos polímeros sintéticos que cumplen este concepto se han incrementado significativamente en los últimos años, debido a que permiten una mejor optimización de las propiedades que se desean obtener; entre ellas deben considerarse la biocompatibilidad, la capacidad de cumplir la función asignada y la biodegradabilidad [3].

2.1.4. Ácido poliláctico (PLA)

El ácido poliláctico (PLA) es un polímero de la familia de los poliésteres producido a partir del ácido láctico, cuya estructura principal consta de un grupo carboxilo y de un radical metilo que está unido al metilo de la cadena del polímero [7].

La fórmula química general del PLA es $(C_3H_4O_2)_n$. En la Figura 2-1 está representada la estructura química del ácido poliláctico:

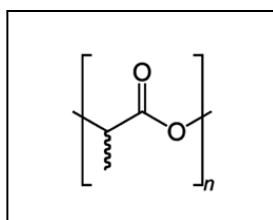


Figura 2-1 Unidad constitucional repetitiva del ácido poliláctico [8].

El PLA pertenece al grupo de los poli(hidroxiácidos), concretamente al grupo de los poli (α -hidroxiácidos) que se diferencian de los (β -hidroxiácidos) al contener el grupo -OH en posición alfa respecto al grupo -COOH. Éstos son polímeros semicristalinos con puntos de fusión relativamente altos.

El ácido láctico o ácido 2-hidroxipropiónico, $CH_3-CHOH-COOH$, contiene un átomo de carbono asimétrico y es el hidroxiácido más sencillo que existe. Hay dos enantiómeros o isómeros ópticos, el D-láctico y el L-láctico. A diferencia del isómero D, la configuración L es metabolizada por el organismo humano [8]. También existe una mezcla racémica, el ácido láctico sintético, constituida por fracciones equimolares de las formas D y L, denominada ácido D,L-láctico, el cual es ópticamente inactivo [7], [9]. En la Figura 2-2 se muestran las estructuras de los enantiómeros o isómeros ópticos del ácido láctico:

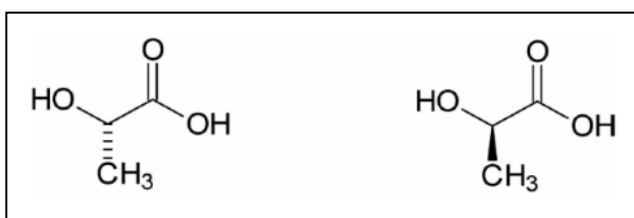


Figura 2-2 Estructura de los isómeros ópticos: ácido L-láctico (levógiro) y ácido D-láctico (dextrógiro) [9].

El PLA se puede obtener básicamente por dos vías: vía condensación/esterificación directa y vía polimerización por apertura del anillo de la lactida denominado proceso ROP (Ring Opening Polymerization), tal y como se muestra en la Figura 2-3. Una de las desventajas de la policondensación directa del hidroxiácido produce es que normalmente se obtiene un polímero de bajo peso molecular que muestra propiedades mecánicas deficientes, lo cual se debe al aumento severo de la viscosidad en estado fundido y la alta temperatura de funcionamiento. Además, la esteroregularidad no se puede controlar durante el curso de la polimerización. Por consiguiente, la polimerización mediante la ROP de lactida es el método más utilizado para la obtención de PLA puesto que permite controlar la relación y la secuencia de las unidades de isómeros D y L del polímero final, el cual es de elevado peso molecular.

Esta reacción requiere una estricta pureza de la lactida y es catalizada por metales, siendo el octoato de estaño el más utilizado [9].

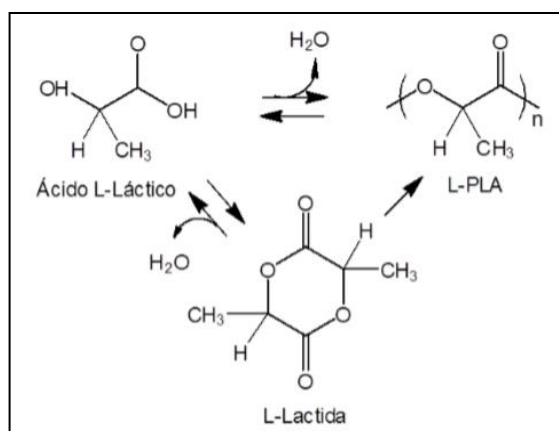


Figura 2-3 Obtención de L-PLA a partir del isómero ácido L-láctico mediante ROP [8].

La lactida es el dímero cíclico del ácido láctico. Debido a los dos carbonos asimétricos presentes en la molécula de ácido láctico, la lactida existe en tres formas diastereoisómeras diferentes: D-lactida, L-lactida y DL-lactida. En la Figura 2-4 se muestra la estructura de los tres diastereoisómeros:

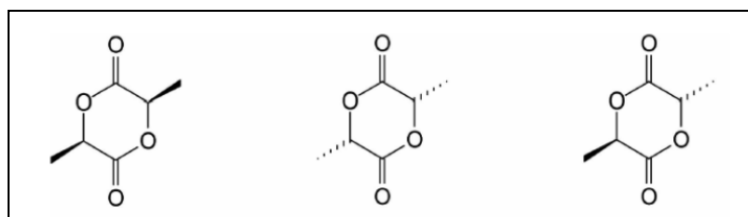


Figura 2-4 Representación de Fischer de los diastereoisómeros D-lactida, L-lactida y D,L-lactida, respectivamente [9].

El monómero cíclico tiene dos carbonos asimétricos por lo que es factible preparar polímeros con diferentes tacticidades. La L-lactida es la que contiene el estereoisómero natural, mientras la DL-lactida está formada por los dos estereoisómeros. El homopolímero derivado del monómero natural, L-láctico, es un polímero semicristalino (grado de cristalinidad del 37%), debido principalmente a su estereoregularidad, tiene alta resistencia a la tensión y baja elongación, y consecuentemente tiene un módulo de Young elevado, lo que hace al polímero muy adecuado para aplicaciones que tienen que soportar una carga como son las suturas y fijaciones ortopédicas [10]. Térmicamente, se caracteriza por tener un punto de ebullición elevado, entre 175-178°C, y una temperatura de transición vítrea comprendida entre 60 y 65°C.

El poli (D,L-láctico) o DLPLA es un polímero amorfo, puesto que está formado por los dos isómeros del ácido láctico con una distribución aleatoria, hecho que provoca que la estructura no sea cristalina. Por consiguiente, este polímero tiene una resistencia a la tensión más baja, alta elongación, y una elevada velocidad de degradación que hace que sea un material muy atractivo para los sistemas de liberación de fármacos. Asimismo se preparan copolímeros de L-PLA y D,L-PLA para disminuir la cristalinidad del polímero quiral y controlar el proceso de degradación [10].

En el campo de la cirugía, el L-PLA tiene grandes aplicaciones como: material de sutura reabsorbible, material de cirugía ortopédica (implantes reabsorbibles), tornillos, placas, grapas entre otros [11]. Por otra parte, el PLA es utilizado en la creación de matrices para la regeneración guiada de tejidos como piel, cartílagos, estructuras cardiovasculares entre otros [12]. También, es utilizado para micro y nanoencapsular medicamentos de liberación lenta como la insulina [13] o los antiinflamatorios [14].

2.1.5. Polietilenglicol (PEG)

El polietilenglicol o glicol de polietileno (PEG) es un polímero de la familia de los poliéteres con muchas aplicaciones desde la industria manufacturera hasta la industria medicinal.

La presencia del enlace éter (R-O-R') en la cadena principal de los poliéteres hace que estos presenten diferentes propiedades. Las uniones éter poseen una baja polaridad relativa y unas interacciones de Van der Waals relativamente débiles, propiedades que hacen que se asemejen a los enlaces C-C de los hidrocarburos. Las uniones C-O poseen una menor energía de rotación, debido al menor volumen del oxígeno respecto al grupo metileno. Esto provoca un aumento en la flexibilidad del polímero debido al aumento en el número de conformaciones permitidas en la cadena.

El PEG está compuesto por unidades constitucionales repetitivas de óxido de etileno. Cada UCR de óxido de etileno tiene un peso molecular de 44Da g/mol, dependiendo del número de UCR que compongan el PEG será de bajo o alto peso. Normalmente se asocia un número al PEG el cual hace referencia al peso molecular medio, es decir, un PEG con UCR=9 tendría un peso molecular medio de aproximadamente 400Da y sería etiquetado como PEG400 [15].

La fórmula química general del PEG es $H-(OCH_2CH_2)_n-OH$ y su estructura química está representada en la Figura 2-5:

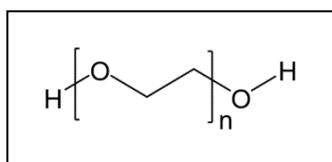


Figura 2-5 Unidad constitucional repetitiva del polietilenglicol.

Los PEG son líquidos o sólidos de bajo punto de fusión, en función de sus pesos moleculares. Están disponibles comercialmente en un amplio intervalo de pesos moleculares, de 300 a 10.000.000 g/mol. Pese a tener un rango de peso molecular muy amplio, las propiedades químicas de los PEG son prácticamente idénticas. Es en las propiedades físicas donde se diferencian debido a los efectos de la longitud de cadena.

El PEG se obtiene por la polimerización de óxido de etileno a través de la reacción que se observa en la Figura 2-6. El glicol de polietileno se produce por la interacción de óxido de etileno con agua, etilenglicol u oligómeros de etilenglicol. La reacción es catalizada por catalizadores ácidos o básicos. El etilenglicol y sus oligómeros son preferibles como material de partida en lugar de agua, debido a que permiten la obtención de polímeros de baja polidispersidad [16] (distribución de peso molecular estrecha). La longitud de la cadena del polímero depende de la reacción de los reactivos.

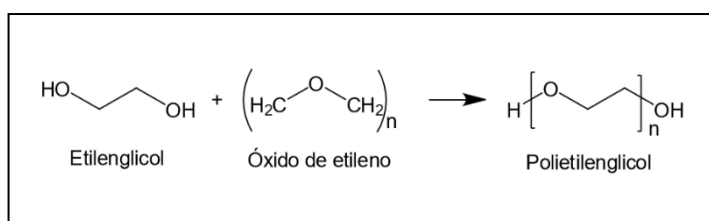


Figura 2-6 Obtención del polietilenglicol mediante la polimerización del óxido de etileno.

Este polímero es soluble en muchos solventes orgánicos como metanol, benceno, cloroformo, dimetilformamida, diclorometano, tolueno entre otro. Además, se disuelve perfectamente en agua y dicha solubilidad aumenta a medida que el peso molecular de éste es mayor. Por esta razón, la mayoría de sus aplicaciones se dan en disoluciones acuosas, posee baja inflamabilidad y baja presión de vapor. A diferencia de otros disolventes, el PEG es biodegradable, biocompatible y no tóxico; y puede ser recuperado y reciclado de la disolución por extracción o destilación directa [17].

El PEG se utiliza en numerosas aplicaciones de la industria alimentaria, en farmacéutica, en cosmética o en el campo de la biomedicina, entre otros. Se trata del polímero más utilizado en el campo de la biomedicina debido a características como su alta compatibilidad o su distinta afinidad ante la polaridad de las moléculas, que permiten la administración de múltiples fármacos [18].

2.2. Aplicaciones biomédicas de los polímeros biodegradables

2.2.1. Generalidades

Es a partir de los años 60 cuando comenzó la investigación sobre las aplicaciones biomédicas de los polímeros biodegradables. Siendo de gran interés debido a que pueden ser eliminados del cuerpo humano sin remoción ni revisión quirúrgica. Desde entonces, el uso de polímeros ha ido creciendo y sus aplicaciones son cada vez más amplias, mejorando las propiedades de los materiales existentes y desarrollando nuevos polímeros para aplicaciones específicas. Las principales aplicaciones biomédicas de los polímeros biodegradables son en suturas quirúrgicas, implantes y suministro de medicamentos. Actualmente, los polímeros sintéticos son los más utilizados en la investigación en el campo de los polímeros para aplicaciones biomédicas [19].

Para poder ser utilizados en aplicaciones biomédicas, los materiales poliméricos deben ser compatibles con el cuerpo humano. Es por esto, que los biomateriales biodegradables no deben ser mutagénicos, cancerígenos, antigénicos o tóxicos. También, deben ser capaces de degradarse pasado el tiempo establecido y poseer propiedades mecánicas adecuadas para su uso. Los productos de la degradación tienen que poderse reabsorber o excretar, así como ser antisépticos, esterilizables y compatibles con el tejido receptor. Asimismo, es necesario que muestren buenas propiedades de conformación para su producción a nivel industrial [6].

2.2.2. Aplicaciones permanentes dentro del organismo

Los materiales utilizados en estas aplicaciones deben ser materiales diseñados para mantener sus propiedades en largos períodos de tiempo. Por lo tanto, los materiales utilizados en este tipo de aplicación deben ser principalmente: inertes, biocompatibles y no tóxicos, con el fin de disminuir el posible rechazo.

Las aplicaciones más importantes son las prótesis o implantes ortopédicos, elementos de fijación como cementos óseos, membranas y componentes de órganos artificiales, entre otros [20].

2.2.3. Aplicaciones temporales dentro del organismo

2.2.3.1. Suturas quirúrgicas

Actualmente, las suturas quirúrgicas representan el campo de mayor éxito dentro de los materiales quirúrgicos implantables. El principal motivo se basa en el hecho que al utilizar materiales biodegradables o bioabsorbibles la aplicación dentro del organismo pasa de ser permanente a ser temporal. De esta manera, este tipo de implante suplanta la función de algún órgano lesionado durante el período de recuperación del mismo, momento en el cual deben desaparecer. Es por esto, que hay un gran interés en desarrollar dichos materiales con el fin de disminuir el potencial de infección postoperatorio.

La sutura quirúrgica se define, de forma genérica, como un filamento estéril utilizado para cerrar heridas, mantener unidos varios tejidos cuando se realizan implantes protésicos o ligar vasos sanguíneos. Para su producción se utilizan materiales de productos naturales, fibras sintéticas comunes y algunas fibras de polímeros sintetizadas específicamente para esta aplicación.

2.2.3.2. Matrices (*scaffolds*)

La aplicación más importante de los polímeros biodegradables se encuentra en los andamios temporales o *scaffolds*. Su función es actuar como soporte artificial sobre un tejido que ha sido debilitado, por enfermedad, lesión o cirugía hasta que el tejido haya recuperado su funcionalidad permitiendo su crecimiento tanto *in vitro* como *in vivo*.

En el campo de la odontología, se utilizan partículas poliméricas porosas como relleno del hueco originado tras la extracción dental para acelerar el proceso de cicatrización del hueso de la mandíbula [20], [21]. Otro campo donde se utilizan es como dispositivos ortopédicos de fijación en zonas donde las propiedades mecánicas requeridas son pequeñas, como los pasadores para la unión de ligamentos o la reparación del menisco y varillas y pasadores para la fijación de fracturas [20], [22], [23]. En cambio, todavía no son aplicables como placas óseas o en aplicaciones con sustento de carga, debido a que no tienen suficiente resistencia.

En la actualidad, el término de *biodegradable scaffold* se asocia específicamente a materiales de estructura tridimensional y porosa, que sirven de soporte para el crecimiento celular *in vitro*, con el fin de construir un sustituto biológico para un órgano o tejido que ha perdido su función [22], [24], [25].

Cuando estos andamios se construyen a partir de materiales obtenidos mediante la técnica de *electrospinning*, se obtienen matrices de micro o nanofibras las cuales presentan notables ventajas [26], [27]. Esta aplicación, es la base de la ingeniería de tejidos, y es uno de los campos de la investigación biomédica más interesantes [24]–[26].

2.2.4. Ingeniería de tejidos

La ingeniería de tejidos es una disciplina de la biomedicina que, combinando células, materiales y las herramientas de la ingeniería, intenta diseñar estructuras biológicas funcionales para sustituir, reparar o regenerar tejidos dañados.

Entre los órganos y tejidos susceptibles de convertirse en productos de la ingeniería de tejidos se incluye el cartílago, el hueso, las válvulas cardíacas, el corazón, los nervios, los músculos, la vejiga y el hígado. Para ello se utilizan andamios porosos (*scaffolds*) que sirven como modelos tridimensionales que proporcionan el soporte necesario para que las células se adhieran, proliferen y mantengan sus funciones específicas, es decir, su fenotipo.

Los materiales más utilizados en la ingeniería de tejidos para la elaboración de scaffolds son los polímeros sintéticos bioabsorbibles. Esto se debe a su capacidad de degradarse mediante hidrólisis en condiciones fisiológicas dentro del cuerpo humano y eliminarse por completo mediante procesos metabólicos. Por consiguiente, los scaffolds pueden resistir el crecimiento del propio organismo evitando problemas de infección o la formación de tejido fibroso, asociados a los implantes permanentes [24], [28]. El desarrollo de la ingeniería tisular implicaría la disminución de los problemas asociados a otras técnicas [29], [30].

1. Disponibilidad del donante y reacción de rechazo a aloinjertos.
2. Transmisión de enfermedades infecciosas cuando se realiza un xenoinjerto.
3. Intervenciones costosas y dolorosas en el caso de autoinjertos.

A continuación, en la Figura 2-7 se muestra un esquema de cómo funciona la Ingeniería de tejidos. El procedimiento estándar se describe a continuación [26]:

1. Extracción de células del cuerpo humano.
2. Crecimiento celular *in vitro*.
3. Semilla de célula en el andamio.
4. Andamio de cultivo de células para aumentar el número de células.
5. Implante de tejido regenerado.

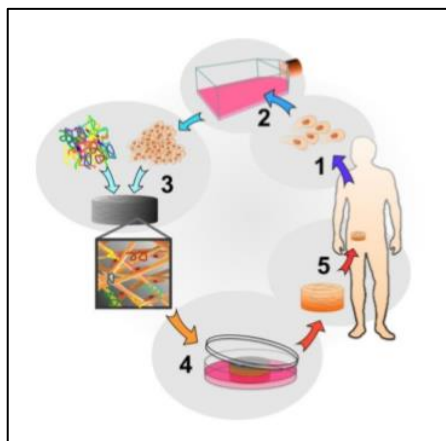


Figura 2-7 Scaffold desarrollado por la Ingeniería de tejidos.

2.3. Electrospinning

El *electrospinning* o electrohilado es una técnica que utiliza fuerzas eléctricas para producir fibras tridimensionales, de una forma relativamente simple y económica, con diámetros que varían desde unos pocos nanómetros hasta algunos micrómetros [31].

La técnica de *electrospinning* fue patentada por Formhals en 1934 y desde entonces se ha ido desarrollando cada vez más. En la última década ha habido un creciente interés por esta tecnología ya que permite producir micro o nanofibras con una amplia variedad de aplicaciones, desde la cosmética, ensayos ópticos, textiles, hasta la investigación médica, entre otras.

2.3.1. Principios de la técnica

En el proceso llamado *electrospinning* se utiliza una fuente de alto voltaje para crear un campo electrostático elevado entre dos polos opuestos, conformados por una aguja y un colector, el cual está a potencial 0 y donde se depositan las fibras micro o nanométricas formando un tejido o matriz porosa (llamada electrospun o mat) con textura, color y densidad características [32]–[34].

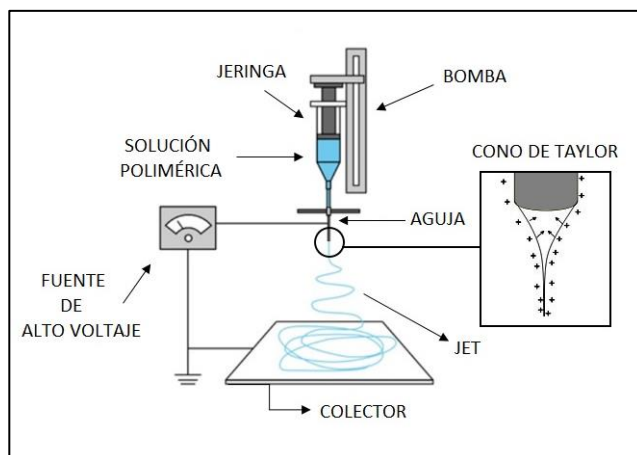


Figura 2-8 Diagrama de un equipo de electrospinning[35].

Tal y como se muestra en la Figura 2-8, la disolución del polímero, preparada previamente, se carga en una jeringa de inyecciones que se conecta a una aguja. Con el fin de impulsar el fluido, se utiliza una bomba de infusión o perfusión, la cual está unida al émbolo de la jeringa y genera en ella una presión y flujo constante que, a través del tubo, se transmite a la disolución del polímero en la aguja. Por el efecto de la polarización y la carga originadas por el campo eléctrico, la solución es atraída en forma de *jet* hacia una superficie conductora, dispuesta a una distancia determinada de la aguja y conectada a tierra. Durante la creación del *jet*, el solvente se evapora de manera gradual, y el producto obtenido se deposita en forma de micro y nanofibras no tejidas de forma aleatoria en la placa colector. Se denomina *jet* al fluido impulsado desde la aguja hasta la placa colector. En la Figura 2-3 se muestra un esquema típico de un equipo de *electrospinning* en posición vertical.

En el flujo electro-hidrodinámico del *jet*, las cargas son inducidas en el fluido a través de la distancia de separación de los electrodos (aguja y placa metálica), rompiéndose la tensión superficial a través del campo eléctrico y descomponiéndose en una tangencial (τ_t) y una normal (τ_n). Esto provoca a la salida de la aguja una deformación en la gota en forma de cono conocido como cono de Taylor. A medida que el *jet* toma una aceleración, su diámetro disminuye en magnitud y las componentes tangencial y normal se equiparan hasta llegar a ser iguales. En la Figura 2-9 se muestra la deformación que sufre la gota a la salida de la aguja a causa de las fuerzas que actúan sobre ella.

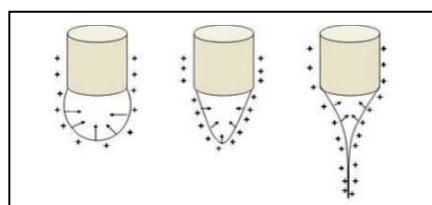


Figura 2-9 Deformación de la gota como consecuencia de la tensión superficial y las cargas electrostáticas.

Una vez se ha formado el cono de Taylor, el proceso de elongación de éste llega a un límite en el que la concentración de la carga es tan elevada que sobrepasa a la tensión superficial y da lugar a un haz en la punta del cono. El haz recorre varias trayectorias inestables durante las cuales se alarga, reduce su diámetro y pierde todo el disolvente convirtiéndose en una fibra polimérica de medidas nanométricas [21], [27], [28], [31]. La matriz de micro o nanofibras es recogida en el colector de forma sólida. La corriente aplicada en la operación es de alto voltaje pero intensidad muy reducida, del orden de microamperios [32].

2.3.2. Parámetros de la técnica

La morfología de las fibras obtenidas por *electrospinning* depende de varios factores los cuales se pueden clasificar en tres grupos:

1. Propiedades de la disolución: peso molecular, concentración del polímero, viscosidad, conductividad, volatilidad del disolvente, constante dieléctrica y tensión superficial.
2. Parámetros de operación: voltaje aplicado, flujo de salida, distancia aguja-colector, diámetro de la aguja, tipo y geometría del colector.
3. Condiciones ambientales: humedad, temperatura y presión atmosférica.

A continuación, se hará una breve descripción del efecto de los parámetros del proceso controlables más significativos. Se ha de tener en cuenta que la interrelación existente entre los parámetros anteriores, hacen de la técnica del *electrospinning* un proceso complicado que requiere la realización de múltiples ensayos experimentales hasta encontrar las condiciones idóneas [32], [36], [37]

2.3.2.1. Propiedades de la disolución

2.3.2.1.1 Concentración

La concentración es uno de los parámetros determinantes del tamaño y la morfología de las fibras. Esto se debe al hecho que tanto la viscosidad como la tensión superficial son propiedades dependientes de la concentración. Si la solución está muy diluida (baja viscosidad) las fibras de polímero se rompen en gotas antes de llegar al colector debido al efecto de la tensión superficial. Por el contrario, si la solución está muy concentrada (alta viscosidad) puede dificultarse su movilidad a través del capilar (aguja) e impedir la creación de fibras. El diámetro de las fibras aumentará a medida que la concentración y la viscosidad sean mayores, las cuales son dos parámetros directamente proporcionales [37]–[40].

2.3.2.1.2 Tensión superficial

La tensión superficial es la fuerza que se encarga que el líquido adopte una forma esférica en vez de mantener un cono estable. Al aplicar un voltaje elevado se pretende aumentar la superficie oponiéndose a la formación de gotas y favoreciendo la formación de *jets* más delgados. Cabe destacar, que una baja tensión superficial contribuye a la producción de fibras lisas [41] así como también reduciéndolo se favorece la obtención de fibras sin presencia de defectos, tal y como concluyeron Doshi y Reneker [42].

2.3.2.1.3 Conductividad de la solución

Una elevada conductividad del polímero favorece a una formación homogénea de fibras debido a un mayor transporte de cargas, que, al verse sometidas al campo eléctrico, provoca que todas las fibras se vean atraídas con la misma aceleración. Además, supone un mayor estiramiento de la solución por lo que las fibras obtenidas son más delgadas (reducción del diámetro) que cuando la conductividad es menor, puesto que supone un menor transporte de cargas y estiramiento de la solución. Para mejorar la conductividad se suelen añadir sales inorgánicas ya que incrementa la conductividad y, por ende, la fuerza eléctrica para el estiramiento del *jet* [27], [32].

2.3.2.1.4 Constante dieléctrica del disolvente

El disolvente de la disolución cumple dos roles importantes dentro del proceso. En primer lugar, disolver las moléculas de polímero para formar el *jet* con carga eléctrica y, en segundo lugar, llevar las moléculas de polímero disueltas hasta el colector. Experimentalmente se ha demostrado que, si la constante dieléctrica del disolvente es alta, se obtienen mejores resultados ya que reduce la formación de gotas y el diámetro de las fibras resultantes.

2.3.2.2. Parámetros de operación

2.3.2.2.1 Voltaje aplicado

Es uno de los parámetros más importantes dentro del proceso. En la mayoría de los casos un voltaje alto permite un mayor estiramiento de la solución debido a la presencia de un fuerte campo eléctrico, lo que supone una reducción en el diámetro de las fibras. Se tiene que tener en cuenta, también, que un voltaje demasiado elevado supone una mayor densidad superficial de carga lo que ocasiona una mayor inestabilidad en el cono de Taylor y beneficia la aparición de defectos. Para electrohilar, se requiere una diferencia de potencial entre 0 y ± 50 kV [43], [44].

2.3.2.2.2 Flujo de salida

El flujo de salida de la disolución determina en gran medida el tiempo que tiene el disolvente a evaporarse. Por este motivo, un flujo menor beneficia a que el disolvente tenga tiempo suficiente para evaporarse evitando la formación de defectos en las fibras. A medida que este se incrementa también lo hace el diámetro de las fibras y, posiblemente, el tamaño de los defectos. Un flujo excesivo genera que la gravedad adquiera un papel protagonista en el balance de las fuerzas generando cúmulos lo suficientemente grandes como para impedir la formación del cono de Taylor. Por estas razones, normalmente, se opera con flujos entre 0.5 y 10 mL/h. Finalmente, es el flujo de salida el que determina la cantidad de solución disponible para el proceso de *electrospinning* [39], [40].

2.3.2.2.3 Distancia aguja-colector

Dependiendo de las propiedades de la solución el efecto de la variación de la distancia puede o no tener efecto en la morfología de las fibras. A distancias muy grandes, las fibras podrían romperse debido a su propio peso, sobre todo si estas son de diámetros pequeños [45]. En el proceso de electrohilado, se requiere una mínima distancia para dar al disolvente el tiempo suficiente para que se evapore de las fibras antes de que estas alcancen el colector. Con distancias muy grandes o demasiado pequeñas se ha observado la aparición de gotas o fibras húmedas que promueven la obtención de fibras aplanadas o con forma de cintas.

La mayoría de los autores coinciden en que a mayores distancias la solución tiene mayor tiempo de vuelo lo que promueve un mayor estiramiento de las fibras antes de depositarse en el plato colector [46].

2.3.2.3. Condiciones ambientales

Cheryl L. Casper evaluó la influencia de la humedad en las fibras obtenidas por medio de la técnica de *electrospinning* y demostró la aparición de pequeños poros circulares en la superficie de las fibras debido a un aumento en la humedad [47]. De igual manera, la humedad puede determinar la velocidad de evaporación del disolvente en la solución, de modo que un disolvente volátil puede evaporarse muy rápido a una humedad relativa baja. Por su parte, la temperatura puede incrementar la rata de evaporación y puede provocar una disminución en la viscosidad de la solución. Por consiguiente, las fibras pueden presentar formas y tamaños diversos dependiendo de los parámetros y características del ambiente [48], [49].

2.3.3. Aplicaciones generales de la técnica

Las fibras obtenidas mediante la técnica de *electrospinning* tienen una gran variedad de aplicaciones, las cuales varían dependiendo del sector al que se dirige. A continuación, se detallan los principales sectores y sus aplicaciones específicas:

1. Ingeniería de tejidos: el *electrospinning* se utiliza para la generación de membranas porosas para la piel, tubos para los vasos sanguíneos que también permiten la regeneración nerviosa y la producción de estructuras tridimensionales, *scaffolds*, con el objetivo de regenerar huesos y cartílagos.
2. Biomedicina: se pueden utilizar las fibras para ser cargadas de fármacos de tal forma que se consigue una liberación controlada, en dispositivos hemostáticos y apósitos para la protección de heridas y quemaduras.
3. Filtros: sirven como membranas en las filtraciones de líquidos, gases y moléculas.
4. Sensores: se pueden utilizar en sensores térmicos, piezoeléctricos y bioquímicos.
5. Ropa de protección: el uso de micro o nanofibras en la producción de ropa permite que ésta tenga una impedancia mínima al aire, eficiencia para atrapar partículas en aerosol y que proteja de los gases bioquímicos.
6. Aplicaciones industriales: dentro de este campo se pueden usar en dispositivos nano o microelectrónicos, en la disipación electrostática, en la protección de interferencias electromagnéticas, en celdas para dispositivos fotovoltaicos, en dispositivos LCD, en materiales ultraligeros para naves espaciales y en catalizadores de alta eficiencia y funcionalidad.
7. Cosméticos: en la fabricación de mascarillas faciales para la limpieza, curación y terapia médica.

2.4. Electrospinning coaxial

2.4.1. Principios de la técnica

El *electrospinning* coaxial es una modificación o una ampliación de la técnica convencional [50] que ha permitido electrohilar simultáneamente diferentes polímeros dentro de una estructura formada por un núcleo (*core*) y una cubierta (*shell*) de nanofibras [51].

A diferencia de la aguja utilizada en el *electrospinning* uniaxial, la boquilla coaxial consta de dos agujas concéntricas. Esta es alimentada simultáneamente por las dos soluciones poliméricas, una de las cuales formará el núcleo de la fibra y la otra la cubierta.

De la misma manera que en la técnica convencional, el proceso de electrohilado se inicia cuando se ve salir la primera gota compuesta por las dos soluciones poliméricas que alimentaran la aguja coaxial. En este proceso, las fuerzas electrostáticas empujan la disolución de la cubierta y el movimiento de ésta genera a su vez fuerzas viscosas que empujan la disolución del núcleo generando un cono de Taylor coaxial (véase la Figura 2-11), en esta ocasión es un cono compuesto por las dos soluciones. El *jet* coaxial es sometido a las mismas inestabilidades electrostáticas que el *jet* producido por la técnica convencional, pero la membrana fibrosa resultante es un material compuesto bicomponente. En la Figura 2-10 se muestra la disposición típica de un equipo de *electrospinning* coaxial en posición vertical.

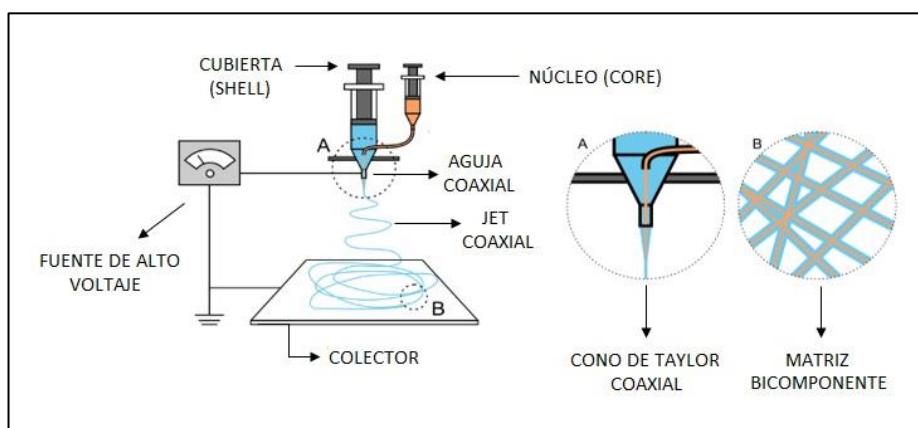


Figura 2-10 Diagrama de un equipo de *electrospinnig* coaxial en posición vertical [35].

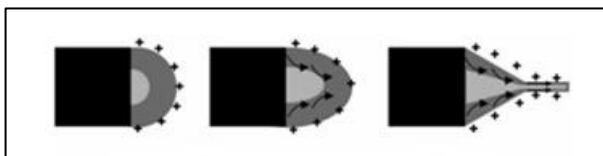


Figura 2-11 Deformación de la gota hasta generar el cono de Taylor coaxial [52].

A pesar de las similitudes del mecanismo, el sistema coaxial es más complejo puesto que intervienen nuevos parámetros [50], [53]. El hecho de usar una aguja coaxial y obtener fibras en el colector no garantiza la obtención de fibras coaxiales como consecuencia de los complejos comportamientos electrodinámicos que intervienen en el proceso. Por consiguiente, es necesario realizar una parametrización para garantizar que la disolución de la cubierta logre arrastrar la disolución del núcleo mediante tensiones viscosas.

2.4.2. Parámetros de la técnica

La morfología de las fibras obtenidas por *electrospinning* coaxial depende de los mismos factores que del mecanismo uniaxial, pero con nuevos parámetros añadidos. Por lo tanto, se clasifican en los tres mismos grupos. A continuación, se detallará los efectos que tienen los nuevos parámetros relativos entre las dos disoluciones en la formación de fibras coaxiales [40].

2.4.2.1. Propiedades de las disoluciones

2.4.2.1.1 Miscibilidad entre disolventes

Las interacciones entre los disolventes utilizados juegan un papel importante en la naturaleza de las fibras coaxiales resultantes. Por este motivo, la elección de los disolventes, tanto del núcleo como de la cubierta, debe realizarse cuidadosamente con el fin de optimizar la solubilidad del polímero y la capacidad de formación del jet compuesto por ambos, sin que ninguno de ellos provoque la precipitación del otro. El hecho de que las soluciones sean inmiscibles asegura la separación de fases entre las disoluciones durante el proceso de electrohilado. El tiempo característico de los fluidos en el cono de Taylor es de un segundo, por lo que la difusión, que se produce en el orden de microsegundos, de las partículas de las dos disoluciones puede producirse en el transcurso del proceso.

2.4.2.1.2 Volatilidad de los disolventes

Una alta volatilidad del disolvente de la disolución del núcleo generará una capa sólida en la interfase entre las dos disoluciones encapsulando el disolvente del núcleo y reduciendo su evaporación. Además, cuando el disolvente del núcleo se vaya evaporando, se generará vacío en el núcleo haciendo que su estructura se colapse produciendo fibras en forma de cinta.

2.4.2.1.3 Viscosidad de la solución

La viscosidad juega un papel fundamental en la formación de fibras coaxiales puesto que son las fuerzas viscosas y de fricción, entre la disolución del núcleo y de la cubierta, las que generan el cono de Taylor al superar la tensión de la interfase. Por ello, la viscosidad de la disolución de la cubierta debe ser mayor que la de la disolución del núcleo con la finalidad de que esta sea arrastrada por la cubierta. Además, el hecho de que actúe una superficie menor sobre el núcleo y que este se controle mediante el endurecimiento por tensión de la interfase, entre ambas disoluciones, hace que simplemente requiera una viscosidad mínima para mantenerse intacto y continuo dentro del fluido que lo envuelve.

2.4.2.1.4 Conductividad de las soluciones

Una conductividad relativa excesiva de la disolución del núcleo respecto a la disolución de la cubierta puede generar que las fuerzas viscosas que deben dominar la estructura coaxial puedan verse superadas por las fuerzas que ejercen las cargas de la disolución del núcleo.

2.4.2.2. Parámetros de operación

2.4.2.2.1 Potencial eléctrico

Un campo eléctrico elevado puede provocar que la disolución de la cubierta genere un cono de Taylor lo suficientemente corto como para no conseguir envolver la disolución del núcleo. Al quedar expuesta al campo eléctrico, las fuerzas electrostáticas generaran un segundo cono de Taylor produciendo como resultado una matriz de dos fibras diferentes.

2.4.2.2.2 Flujo de las disoluciones

Este parámetro se debe tener en cuenta cuando haya más de una bomba de infusión o perfusión en el proceso lo que permite que las disoluciones sean impulsadas a diferentes velocidades de flujo. Un alto flujo de la disolución de la cubierta respecto al del núcleo impedirá la continuidad del líquido del núcleo generando fibras con gotas en su interior. Por el contrario, un alto flujo de la disolución del núcleo impedirá a la disolución de la cubierta arrastrar a la primera mediante fuerzas viscosas. Esto provocará que no se forme un cono de Taylor y, por lo tanto, se acabaran generando fibras de los diferentes polímeros. De forma general, el flujo de la disolución del núcleo debe ser más pequeño que el flujo de la disolución de la cubierta.

2.4.3. Aplicaciones biomédicas del electrospinning coaxial

La mayoría de las aplicaciones del *electrospinning* coaxial se encuentran en el sector de la biomedicina, sobre todo en el ámbito de la administración de fármacos.

Actualmente, la administración de fármacos se realiza juntamente con otras sustancias, como los polímeros, que mejoran el mecanismo de liberación. La liberación de fármacos puede darse de dos maneras: liberación controlada y liberación dirigida.

La administración de medicamentos, a partir de las fibras generadas en el *electrospinning*, se basa en el principio de que la velocidad de disolución del fármaco aumenta con el aumento de la superficie del medicamento y de la estructura polimérica que lo soporta. También, se ha de tener en cuenta que la interacción existente entre el fármaco y el polímero determina el comportamiento de la liberación, puesto que, el complejo de fibras resultantes está estrechamente ligado a la solubilidad y la compatibilidad del fármaco en la solución de la mezcla, así como a las condiciones del *electrospinning*.

En la actualidad, para conseguir una liberación controlada evitando la liberación por apertura longitudinal se utilizan fibras producidas a partir del *electrospinning* coaxial. Dichas fibras, que están compuestas por un núcleo y una cubierta, permiten un perfecto encapsulamiento del fármaco, el cual se encuentra en el núcleo protegido por una cubierta polimérica. En este caso, el perfil de liberación se puede controlar mediante la regulación del tamaño de partícula.

Finalmente, el *electrospinning* coaxial también permite la creación de un sistema de liberación bifásica, el cual consisten en una primera fase en la cual el fármaco es liberado de manera inmediata, puesto que se encuentra combinado con un polímero hidrofílico en la cubierta; y una segunda fase llamada liberación sostenida, en el que el fármaco se encuentra combinado con un polímero hidrofóbico en el núcleo.

3. Materiales y métodos

En este apartado, se han presentado tanto los materiales y reactivos utilizados, como los métodos y equipos que se han llevado a cabo para la caracterización de las matrices poliméricas.

3.1. Reactivos

Los disolventes y reactivos utilizados para los diferentes ensayos de laboratorio realizados son los siguientes:

1. Acetona, *Sigma-Aldrich*.
2. Agua ultrapura, *Millipore*.
3. Cloroformo, *Fisher Scientific*.
4. Preparación comercial de bacteriófagos, *Phagestaph™*.
5. PBS, *Sigma-Aldrich*.
6. PEG 10000 kDa, *Sigma-Aldrich*.
7. PEG 35000 kDa, *Sigma-Aldrich*.
8. PLA, *Sigma-Aldrich*.
9. BHI, *Sigma-Aldrich*.

3.2. Material de laboratorio

Los materiales utilizados en la realización de los diferentes ensayos de laboratorio son los siguientes:

- | | |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1. Agitador | 10. Pinzas de precisión |
| 2. Balanza analítica | 11. Pipetas Pasteur |
| 3. Eppendorf | 12. Pistola de silicona |
| 4. Espátula | 13. Porta y cubreobjetos para microscopía óptica |
| 5. Gradilla | 14. Tijeras |
| 6. Jeringas de plástico de 5 mL y 10 mL | 15. Tubos con tapa |
| 7. Papel de aluminio | 16. Vasos de precipitado |
| 8. Parafilm | 17. Viales de 20 mL |
| 9. Pera de succión | |

3.3. Preparación de la disolución polimérica de PLA, PEG y PLA/PEG

Para la obtención de fibras coaxiales mediante la técnica de *electrospinning* coaxial es necesario transformar previamente los polímeros PLA y PEG (estado sólido) en disoluciones poliméricas. Para ello se ha seguido el siguiente procedimiento:

1. Preparar la composición de los diferentes disolventes que se van a utilizar en los experimentos:
 - 1.1. CHCl_3 :Acetona 2:1 (v:v)
 - 1.2. Agua ultrapura
 - 1.3. CHCl_3
2. Calcular la masa de polímero, PLA o PEG, necesaria para tener un porcentaje determinado de concentración peso a peso (%w/w), del polímero en la disolución, en una muestra total de 10 gramos.
3. Introducir el vial que contendrá la disolución polimérica en la balanza analítica y calibrar a 0.
4. Añadir en el vial la cantidad ya calculada de polímero con ayuda de una espátula.
5. Añadir con ayuda de la pipeta Pasteur la cantidad de disolvente requerida hasta completar los 10 g totales de la muestra polimérica.
6. Tapar y sellar, con parafilm, el vial y dejarlo 24 horas en el agitador a 37°C.

3.4. Electrospinning coaxial

En la Figura 3-1, se muestra el equipo de *electrospinning*, tanto para la técnica convencional como para la coaxial, utilizado para la obtención de micro o nanofibras. Este está compuesto por una bomba de desplazamiento (1), una o dos jeringas (*electrospinning* uniaxial o coaxial) (2), una aguja simple o coaxial (dependiendo del tipo de fibras que se quieren obtener) (3), una fuente de alimentación de alto voltaje (4), una superficie colectora (5) y una caja protectora (6).

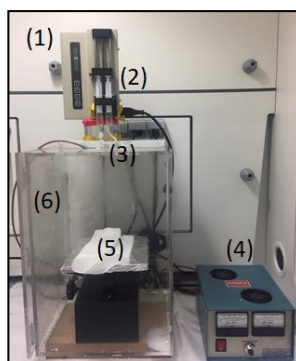


Figura 3-1 Equipo de *electrospinning* coaxial.

Durante la realización de los diferentes experimentos con la técnica del *electrospinning*, es indispensable el uso de guantes, papel de aluminio, papel, cubreobjetos y portaobjetos. Así como también, el uso del microscopio óptico (OM) para analizar las fibras *in situ* con la finalidad de establecer las condiciones más idóneas de electrohilado.

El procedimiento seguido para la técnica del *electrospinning* coaxial es el siguiente:

1. Preparar el montaje de la aguja coaxial. Introducir la aguja 21G en el interior de la aguja 14G y ajustar hasta que ambas agujas estén concéntricas. Fijar el montaje con la ayuda de una pistola de silicona.
2. Cargar las jeringas, del mismo tipo, con sus correspondientes soluciones poliméricas. Unir la jeringa de la cubierta a la aguja coaxial con un tubo de teflón.
3. Colocar las jeringas en la bomba. Elegir, en el menú de la bomba, el tipo y el tamaño de la jeringa (en este caso: plástico y 5 o 10 cc), el volumen de solución (de 0 a 5 o 10 mL) y el flujo al cual se quiere realizar el experimento.
4. Cubrir la superficie colectora con papel de aluminio para recoger la muestra electrohilada.
5. Conectar la fuente de alimentación a la jeringa y al colector.
6. Poner un cubreobjetos sobre el colector para analizar en el OM si las fibras obtenidas son las más idóneas. Cubrir con papel la zona donde goteara la disolución.
7. Encender la bomba.
8. Observar que el flujo se estabiliza, retirar el papel y encender la fuente de alimentación y regular el voltaje al que se desea trabajar. Cerrar la caja protectora.
9. Observar que se forma el cono de Taylor en la punta de la aguja y recoger muestra en el cubreobjetos.
10. Poner el cubreobjetos en un portaobjetos y analizar la muestra recogida en el OM. Si las fibras son válidas, recoger todo el volumen de solución sobre el papel de aluminio.

Durante el proceso de electrohilado, es necesario ir controlando que el cono de Taylor se mantiene estable, así como también que las agujas se encuentran de manera concéntrica con el fin de asegurar que la disolución de la cubierta envuelva uniformemente la disolución del núcleo.

En el caso de que se pretenda utilizar diferentes flujos, para el núcleo y la cubierta de las fibras coaxiales, se utilizarán dos bombas de desplazamiento. A diferencia de la técnica coaxial, en la convencional se utiliza una única jeringa y una aguja simple.

3.5. Morfología y diámetro de las fibras

La caracterización de las matrices obtenidas con la técnica del *electrospinning* se ha llevado a cabo mediante microscopía. Para la optimización de las condiciones de electrohilado, se han realizado observaciones con ayuda del microscopio óptico (OM). Para la morfología de las fibras y el estudio de sus diámetros se ha utilizado la microscopia electrónica de barrido (SEM).

3.5.1. Microscopia óptica (OM)

El microscopio óptico utilizado es el microscopio *Zeiss Axioskop 40*. Las micrografías fueron tomadas con una cámara digital *Zeiss AxiosCam MRc5*. Ambos equipos se muestran en la Figura 3-2.



Figura 3-2 Microscopio óptico (OM).

El microscopio óptico se sirve de la luz visible para crear una imagen aumentada del objeto. El microscopio utilizado está compuesto por dos sistemas de lentes convexas, tres objetivos de 10, 20 y 40 aumentos y el ocular. El ocular y el objetivo están montados en extremos opuestos del tubo cerrado.

El microscopio óptico es práctico para establecer las mejores condiciones para conseguir micro o nanofibras puesto que permite ver una imagen virtual aumentada de la imagen real a través del ocular. Por esta razón, es útil para hacer una observación y determinar de manera rápida la calidad de las muestras recogidas en un cubreobjetos. Sin embargo, no sirve para observar la morfología o realizar mediciones del diámetro de las fibras por lo que solo se ha utilizado para hacer una primera valoración.

El procedimiento seguido para el uso del OM es el siguiente:

1. Encender el ordenador y abrir el programa AxioVision.
2. Encender el microscopio óptico y la cámara mediante el comando *Live*.
3. Colocar el portaobjetos, con las muestras recogidas en el cubreobjetos, en el microscopio óptico.
4. Escoger el aumento que se desea y enfocar la imagen que se proyecta en la pantalla.
5. Realizar la fotografía mediante el comando *Snap*, seleccionando previamente el aumento escogido (10, 20 o 40).

6. Modificar las propiedades de la fotografía mediante el comando *Show Properties* y añadir la escala de la fotografía con el comando *Scale bar*. Guardar la fotografía.
7. Retirar el portaobjetos. Repetir a partir del paso 3 para realizar otra fotografía.
8. Al finalizar, apagar el programa y el microscopio óptico.

3.5.2. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido o SEM (*Scanning Electron Microscope*) utilizado ha sido el *Focus Ion Beam Zeiss Neon40* (véase la Figura 3-3). Este sirve para realizar fotografías a las muestras que nos permiten analizar la morfología de la superficie de las fibras y realizar medidas de los diámetros para realizar su distribución. La medida de los diámetros se ha realizado con el programa informático *SmartTiff* de *Carl Zeiss SMT Ltd* y el procesamiento de los datos mediante el *Origin Pro 8.0*.

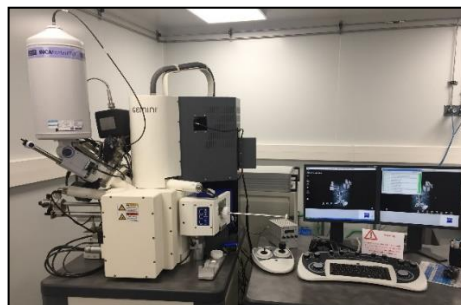


Figura 3-3 Microscopio electrónico de barrido (SEM).

El SEM es un instrumento que realiza un barrido, a través de un rastreo programado, a la superficie de un sólido mediante un haz de electrones de energía elevada. La cámara donde se introduce la muestra trabaja al vacío. En la parte superior de la cámara está situado el cañón de electrones el cual produce el haz de electrones, que posteriormente generará la imagen, el haz viaja verticalmente a través del microscopio a un voltaje de aceleración de 5 kV. La muestra es enfocada gracias a una serie de lentes electromagnéticas situadas en la columna. Los electrones de alta intensidad inciden sobre la muestra y los electrones dispersados de alta intensidad son captados por detectores que los convierten en una señal digital captada por una pantalla.

3.5.2.1. Sputtering

Para poder aplicar la técnica del SEM en las matrices se necesita una preparación previa que consiste en recubrir la muestra con una capa delgada de material conductor (oro o carbono) con el fin de que esta sea conductora.

Dicho recubrimiento previene la formación de carga eléctrica sobre la muestra debido a la baja conductividad del polímero y que dicha carga interaccione con el haz de electrones incidente. Cuando esto ocurre, las imágenes se distorsionan por lo que es imprescindible un recubrimiento óptimo para la obtención de imágenes. Este recubrimiento se ha realizado con el dispositivo *Mitec K950 SputterCoater*, Figura 3-4, el cual crea un recubrimiento por pulverización catódica utilizando un campo eléctrico y gas argón, trabajando en condiciones de vacío.



Figura 3-4 Dispositivo de recubrimiento.

3.6. Pérdida de masa por remoción del PEG

A partir de la pérdida de masa de las matrices, después de ser removidas con agua, se ha pretendido analizar si las fibras obtenidas por *electrospinning* coaxial son propiamente coaxiales. Para ello, se ha seguido el siguiente procedimiento:

1. Recortar 3 matrices cuadradas por muestra recolectada. Pesar cada una de las matrices con la balanza analítica y anotar los pesos iniciales (m_i).
2. Introducir cada una de las matrices en tubos diferentes y añadir 3 mL de agua ultrapura para remover el contenido de PEG. Dejar en remojo 24 horas.
3. Retirar el agua de los tubos y secar las matrices en la estufa a 37°C durante 24 horas.
4. Sacar las matrices de la estufa y pesarlas. Realizar este paso hasta que los valores de los pesos de las matrices no varíen más de un 5% para comprobar que están completamente secas. Tomar la última pesada como valor del peso final de cada matriz (m_f).
5. Calcular el porcentaje de PEG (polímero de sacrificio) que ha perdido cada matriz.

3.7. Espectrómetro IR

El equipo utilizado para realizar el análisis mediante espectroscopia de infrarrojo (IR) es el *FTIR 4100 Jasco* con los accesorios *Specacmodel MKII Golden Gate Heated Single Reflection Diamond ATR* y con *ZnS lenses + High Stability Temperature Controller (West 6100+)*, tal y como se muestra en la Figura 3-5. Este sirve para realizar un estudio cualitativo de una muestra de matriz para determinar los grupos funcionales que la constituyen.



Figura 3-5 Equipo de espectroscopia de infrarrojo (IR).

La técnica del IR se basa en la absorción de radiación infrarroja a una determinada longitud de onda a partir de la excitación de los modos de vibración y subestados de rotación de las moléculas que provocan un cambio en su momento dipolar. Es posible asignar absorciones a grupos funcionales específicos y obtener un espectro de IR diferente para cada molécula.

El espectro IR de un compuesto es una representación gráfica de la absorción que tiene lugar en la región infrarroja del espectro en función de la frecuencia de la radiación. Para poder cuantificar la cantidad de radiación absorbida se determina el porcentaje de transmitancia (T%). La identificación de los grupos funcionales se realiza basándose en que cada uno de ellos tiene una absorción característica para una longitud de onda determinada.

Para la realización del espectro IR de las diferentes muestras se ha seguido el siguiente procedimiento:

1. Encender el ordenador y poner en marcha el espectrofotómetro siguiendo las instrucciones del aparato.
2. Abrir el software llamado *Spectra Manager*.
3. Abrir el ATR y limpiar con un papel con etanol el soporte de diamante y el cristal de zafiro, tal y como se indica en las instrucciones.
4. Hacer una línea base denominada *background*.
5. Poner la muestra entre el soporte y el cristal y cerrar el ATR. Tomar la medida del espectro utilizando la aplicación *Spectra Measurement*. Guardar el espectro.

6. Repetir el procedimiento a partir del punto 5 para cada muestra.
7. Cerrar el equipo siguiendo las instrucciones.

3.8. Estudio cualitativo de la actividad de los bacteriófagos

Se ha realizado un estudio cualitativo para determinar la actividad de los bacteriófagos incorporados en las fibras de PEG, las cuales constituirán el núcleo de las fibras coaxiales.

3.8.1. Incorporación de bacteriófagos en fibras de PEG

Para la incorporación de fagos en las fibras, se ha elaborado las siguientes soluciones: PEG en Cloroformo (CHCl_3) al 25% (%w/w) y PEG en *Phagestaph*TM al 25% (%w/w), siguiendo los mismos pasos explicados en la preparación de las disoluciones poliméricas de PLA y PEG, Apartado 3.3. Después de estar en agitación durante 24 horas a 37°C, se ha realizado dos mezclas de ambas disoluciones en distintas proporciones volumétricas. Seguidamente, se ha homogenizado cada solución final con ayuda de un mezclador de vórtice. Las disoluciones finales preparadas son las siguientes:

1. PEG en CHCl_3 :*Phagestaph*TM 2:1 (v:v) al 25% (%w/w).
2. PEG en CHCl_3 :*Phagestaph*TM 1:1 (v:v) al 25% (%w/w).

Seguidamente, se ha aplicado la técnica de *electrospinning* a las dos disoluciones y se ha obtenido, en sus condiciones más idóneas, dos matrices fibrosas de PEG con bacteriófagos incorporados.

3.8.2. Método cualitativo de la viabilidad de los bacteriófagos

Para observar el efecto bactericida de los fagos incorporados en el núcleo de las fibras uniaxiales de PEG, explicado en el Apartado 3.8.1, se ha utilizado un método cualitativo basado en la inhibición del crecimiento bacteriano en placas de agar. Para ello, previamente, se ha añadido agar a un caldo de cultivo y se ha dejado gelificar en el interior de distintas placas de Petri. A continuación, se ha seguido el siguiente procedimiento:

1. Pesar aproximadamente 30 mg de cada matriz y añadirlos en eppendorfs distintos.
2. Pipetear 100 μL de agua estéril en cada uno de los eppendorfs, para disolver la matriz inicial.
3. Preparar una dilución seriada hasta 10^{-10} de la disolución inicial (10^0), con una concentración aproximada de 30 mg/100 μL .
4. Cuadricular las placas de agar, específicas para los *Staphylococcus Aureus*.
5. Extender, con ayuda de un bastoncillo, 100 μL de cultivo *Staphylococcus Aureus* ATTC 25923 en dos placas de agar. Dejar secar en una estufa a 37°C durante 15-20 minutos.

6. Pipetear 5 μ L de cada una de las 11 diluciones preparadas, para cada matriz, en diferentes cuadrados de la cuadrícula de las placas de agar. Dejar secar en una estufa a 37°C.

En la Figura 3-6, se muestra una representación de la dilución seriada mencionada en el punto 3:

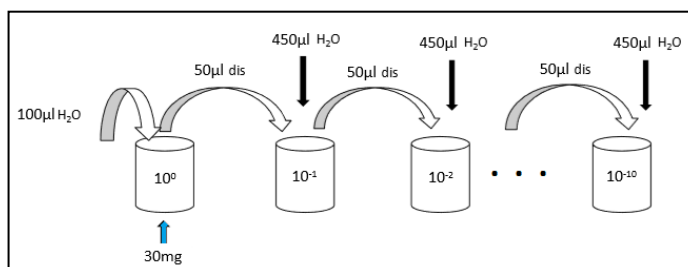


Figura 3-6 Representación de la realización de las 11 diluciones seriadas de cada matriz.

Transcurrido un par de días, se ha observado si hay ausencia de crecimiento bacteriano en las zonas donde se ha pipeteado la dilución seriada de cada matriz. De este modo, se ha decidido qué proporción volumétrica es la más adecuada para la preparación de la disolución polimérica del núcleo con fagos incorporados.

3.9. Incorporación y liberación de bacteriófagos encapsulados en fibras coaxiales

La encapsulación de los bacteriófagos en las fibras coaxiales se ha realizado a partir de una mezcla polimérica que combina una preparación comercial de fagos (*PhagestaphTM*) con el polímero hidrofílico, PEG, que compone el núcleo de la fibra, tal y como se explica en el Apartado 3.8.1. La proporción volumétrica de la disolución se ha decidido a partir del método cualitativo, explicado en el Apartado 3.8.2.

La liberación de los bacteriófagos se ha llevado a cabo mediante un tampón fosfato salino (PBS). Se trata de una solución acuosa isotónica con un pH fisiológico (de 6,8 a 7,4) que mantiene la integridad y viabilidad de las células.

Para la liberación de los fagos se ha seguido el siguiente procedimiento:

1. Preparar 100 mL de PBS añadiendo 0,995 g de una mezcla de cloruro sódico, fosfato sódico, cloruro de potasio y fosfato de potasio, que no contiene aditivos ni inhibidores, en 100 mL de agua estéril.

2. Agitar hasta diluir y filtrar la disolución. Guardar la solución tampón en un recipiente estéril.
3. Depositar entre 20 y 30 mg de las matrices bicomponentes recolectadas en diferentes eppendorfs.
4. Añadir con ayuda de una micropipeta 1mL de PBS con el objetivo de disolver las matrices y liberar a los fagos encapsulados.
5. Extraer 200 μ L de cada eppendorf y depositarlo por filas en una multiplaca de 96 micropocillos (8filasx12columnas). Esta extracción es la medida inicial, 0 horas, de la liberación.
6. Añadir 200 μ L de PBS en cada eppendorf para mantener el volumen constante durante todo el método.
7. Sellar con parafilm la multiplaca y guardarla en la nevera a 4°C.
8. Dejar los eppendorfs, agrupados en una gradilla, en agitación a 37°C.

Finalmente, se ha repetido el proceso (del paso 5 al 8) cada 2 horas, las primeras 10 horas desde el inicio del proceso, y a las 24 y 48 horas. Dichas muestras se han ido depositando por filas en la multiplaca.

3.10. Cultivo bacteriano

Las matrices de fibras obtenidas mediante *electrospinning* se han sometido a un cultivo bacteriano con el fin de evaluar el efecto bactericida de los fagos en las bacterias *Staphylococcus Aureus*. Este efecto se ha analizado teniendo en cuenta las distintas horas de liberación, por lo que se ha realizado el cultivo bacteriano en la misma multiplaca empleada en la liberación de los fagos, explicada en el Apartado 3.9.

El método de crecimiento bacteriano se ha basado en cultivar 50 UFC (unidades formadoras de colonias) en los micropocillos de la multiplaca y medir la turbidez de estos por absorbancia, la cual se ha realizado a una longitud de onda de 450 y 595 nm. El equipo utilizado para efectuar las lecturas de absorbancia ha sido el lector de microplacas *EZ-READ 400 ELISA*, Figura 3-7.



Figura 3-7 Equipo lector de multiplacas.

Para poder analizar la inhibición del crecimiento bacteriano provocado por la liberación de los fagos de las matrices, se han preparado cuatros controles en la multiplaca para obtener, también, sus medidas de absorbancia en el transcurso del método.

Se han preparado los cuatro controles de la siguiente manera:

1. Control negativo:

- Medio con bacterias: se ha añadido 200 µL de solución de PBS y 50 µL de una solución que contiene 10^3 UFC, para tener un valor aproximado de 50UFC en el control.

2. Control positivo:

- Medio: se ha añadido 200 µL de la disolución PBS y 50 µL de medio BHI.
- Medio con fagos: se ha añadido 50 µL de medio BHI y 200 µL de *Phagestaph*TM.
- Medio con fagos y bacterias: se ha añadido 200 µL de *Phagestaph*TM y 50 µL de una solución que contiene 10^3 UFC, para tener un valor aproximado de 50 UFC en el control.

El medio BHI se ha preparado, previamente, reconstituyendo 37 g de extracto de caldo de cultivo (BHI) en 1L de agua ultrapura y esterilizando la solución en un autoclave. Además, para obtener una solución con una cantidad aproximada de 10^3 UFC, se ha añadido 200 µL de cultivo *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923 en 10 mL del medio BHI.

Una vez se han preparado los controles y se han añadido las 50 UFC a los micropocillos, que contenían 200 µL de las matrices disueltas en distintas horas, se ha procedido a realizar una lectura inicial (tiempo 0). Esta se ha repetido cada 2 horas, las primeras 8 horas, y a las 24, 48 y 72 horas. Entre lecturas, la multiplaca se ha dejado en una estufa a 37°C. Es importante, que durante las 72 horas que dura el proceso de cultivo, todo los micropocillos mantengan su volumen constante (250 µL), puesto que la absorbancia mide la turbidez de estos.

4. Resultados y discusión

4.1. Electrohilado uniaxial del núcleo y de la cubierta de la fibra coaxial

Las fibras coaxiales objeto de estudio de este TFG están compuestas por un núcleo de PEG, donde se incorporarán los bacteriófagos, y una cubierta de una mezcla de PLA+PEG.

Dado que en la técnica coaxial es más compleja que la convencional, se ha decidido realizar un estudio previo para determinar las condiciones más idóneas tanto del núcleo como de la cubierta por separado mediante *electrospinning* uniaxial. Estas condiciones serán el punto de partida para la obtención de fibras coaxiales mediante *electrospinning* coaxial.

En los diferentes experimentos realizados, que se expondrán en los siguientes apartados, se ha variado diferentes parámetros operacionales de la técnica con el fin de encontrar las condiciones más idóneas de los procesos de electrohilado del núcleo y de la cubierta. Estos parámetros son la distancia aguja-colector, el flujo de salida y el voltaje. Para cada uno de ellos se ha utilizado los siguientes valores o rango de variación:

1. Distancia aguja-colector: 9, 15 y 22,5 cm.
2. Voltaje: entre 15 y 25 kV.
3. Flujo de salida: entre 2,5 y 10 mL/h.

Para la parametrización de las condiciones, se ha tenido en cuenta los siguientes requisitos, ordenados de mayor a menor prioridad:

1. Formación del cono de Taylor y ausencia de defectos como la presencia de gotas de polímero.
2. Fibras largas y uniformes.
3. Máximo flujo posible.
4. Mínimo voltaje posible.
5. Máxima distancia aguja-colector posible.

Los dos primeros requisitos se deben al hecho que se busca obtener matrices uniformes que maximicen su relación superficie-volumen. De esta forma, unas fibras no uniformes generaran unas matrices más voluminosas y la presencia de gotas harán que estas no sean homogéneas. El tercer requisito se basa en el objetivo de minimizar el tiempo necesario para recolectar la matriz fibrosa maximizando el caudal, que define la relación volumen-tiempo.

Finalmente, los dos últimos requerimientos buscan minimizar el campo eléctrico al que se someten las fibras y, por ende, al que están expuestos los bacteriófagos incorporados en el núcleo.

A continuación, en la Figura 4-1, se muestran imágenes obtenidas por microscopia óptica con la que se ha ilustrado posibles defectos observados en los diferentes experimentos realizados a lo largo del TFG y, por lo que se han ido descartando las condiciones operacionales.

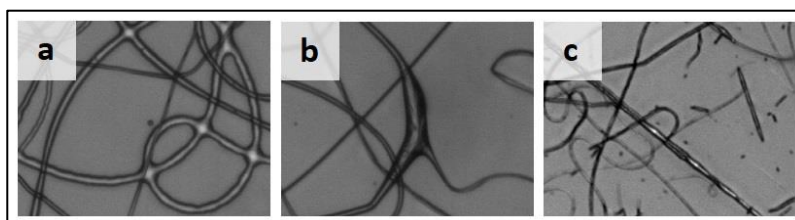


Figura 4-1 Defectos observados con el OM durante los diferentes ensayos realizados.

En la Figura 4-1a, se observa la obtención de fibras con presencia de *beads*, es decir, gotas de polímero que no se han acabado de estirar para formar fibras uniformes. Esto puede deberse por la aplicación de un flujo elevado y un voltaje bajo. En la Figura 4-1b, se observa que contra mayor es el flujo para un determinado voltaje, la cantidad de polímero acumulado en las fibras (*bead*) es más grande. En contraste, a mayor voltaje, mayor es la fuerza de estiramiento y, por ende, menor el diámetro de las fibras lo que unido a un flujo pequeño provoca la obtención de fibras rotas, Figura 4-1c.

Con el objetivo de minimizar los parámetros ambientales, como la temperatura y la humedad del ambiente, todas las disoluciones poliméricas preparadas, a lo largo de este TFG, se han mantenido en agitación y a una temperatura constante de 37°C. Cabe recordar que, una disminución de la temperatura conlleva un aumento en la viscosidad de la disolución, lo que puede ocasionar alteraciones en la técnica de *electrospinning*.

4.1.1. Electrohilado de fibras constituidas de PEG

En primer lugar, se debe tener presente que las fibras constituidas de PEG son las que compondrán el núcleo de las fibras coaxiales y, por lo tanto, donde se incorporaran los bacteriófagos por adsorción para su posterior liberación.

Antes de llevar a cabo la técnica del *electrospinning* para encontrar las condiciones más idóneas de operación, se debe tener en cuenta dos parámetros de la disolución polimérica para su preparación: la concentración del polímero en la disolución y el disolvente que se utilizará. Esto se debe a que, durante la técnica de electrohilado, la disolución debe tener una concentración adecuada para la obtención de fibras.

A concentraciones bajas, se obtiene una mezcla de gotas y fibras, que a medida que la concentración de la solución aumenta, la forma esférica de las gotas se deforma en una forma fusiforme hasta que, finalmente, se consigue producir fibras uniformes debido a una relación adecuada entre los distintos parámetros que intervienen. Es preciso recalcar, que la concentración y la viscosidad son dos parámetros directamente proporcionales y, que esta última, se ve determinada por la concentración y el disolvente utilizado. Es por eso, que es importante la elección del disolvente para la preparación de la solución polimérica.

En cuanto al disolvente, este debe diluir el PEG y, a la vez, ser compatible con la viabilidad de los fagos y no reducir su efecto bactericida. Los dos disolventes que cumplen dichas condiciones son: el agua ultrapura (*Millipore*) y el propio medio de cultivo de los fagos, el BHI.

El problema de utilizar disolventes acuosos es que estos tienen una baja volatilidad o, en otras palabras, una velocidad de evaporación reducida. Lo que resulta ser poco favorable para aplicar la técnica de *electrospinning*, en la que el disolvente se debe evaporar durante el recorrido que hace el *jet* desde la salida de la aguja al colector. Por esta razón, se ha decidido trabajar con una concentración elevada con el fin de obtener una solución polimérica muy viscosa que ralentice la dinámica del proceso y ayude a mejorar el comportamiento del *jet*. Así pues, se ha escogido una concentración del PEG al 50% peso a peso ($\%w_{POL}/w_{SOL}$) [54].

Una vez se ha decidido la concentración del polímero en la disolución, se ha preparado dos disoluciones poliméricas, tal y como se explica en el Apartado 3.3, utilizando el agua ultrapura como disolvente de una y el medio de cultivo como disolvente de la otra para comprobar con cual se obtienen fibras de calidad.

En un inicio, se ha utilizado el PEG10000, pero no ha sido posible electrohilarlo en unas condiciones más idóneas, debido a la presencia de una cantidad importante de gotas. Por esta razón, se ha decidido utilizar a lo largo de todo el proyecto el PEG35000 ya que, en general, contra mayor es el peso molecular del polímero más fácil es de electrohilar. Cabe señalar, que el peso molecular del polímero es uno de los parámetros de la técnica de *electrospinning* que influye en las propiedades de la disolución polimérica.

Para la parametrización de las fibras de PEG, se han realizado un total de 54 experimentos. En primer lugar, para cada una de las disoluciones preparadas, se ha fijado una de las tres distancias agujas-colector (9, 15 y 22,5 cm). A continuación, se ha fijado un flujo de salida y se le ha aplicado diferentes voltajes (15, 20 y 25 Kv). Se ha repetido este último paso para otros dos valores fijos de flujo de salida.

Una vez se ha ensayado con tres caudales distintos para una distancia fija, se ha repetido todo el proceso explicado para las dos restantes distancias agujas-colector establecidas.

En la mayoría de los ensayos realizados con el medio de cultivo como disolvente, no se ha conseguido electrohilar puesto que solo se obtenían gotas de polímero pese a presentar una viscosidad adecuada. Solo se ha observado la formación de gotas y pequeñas fibras en caudales inferiores a 0,5 mL/h y voltajes elevados. En cambio, empleando el agua ultrapura como disolvente se ha conseguido obtener fibras a diferentes condiciones operacionales. Por esta razón, se ha decidido utilizar como disolvente del núcleo el agua ultrapura.

Teniendo en cuenta los requisitos descritos en el Apartado 4.1, para la parametrización de las condiciones de operación, se ha determinado como la condición más idónea recogida en la Tabla 4-1.

Tabla 4-1 Condiciones más idóneas para obtener fibras de PEG por electrospinning uniaxial.

	Concentración PEG (%w _{POL} /w _{SOL})	Voltaj (kV)	Flujo (mL/h)	Distancia aguja-colector (cm)
Núcleo	50	25	5	22,5

Por último, a lo largo de este TFG, se ha mantenido constante el diámetro de la aguja interior que conforma el núcleo de la fibra coaxial. La aguja empleada ha sido la *Terumo* 21G con diámetros de 1,2 mm (ϕ_{EXT}) y 0,8 mm (ϕ_{INT}).

4.1.1.1. Análisis mediante OM

Debido al diámetro micro y nanométrico de las fibras, el microscopio óptico no es útil para caracterizar de manera significativa las fibras obtenidas mediante *electrospinning*. Sin embargo, es de gran ayuda a la hora de descartar de manera inmediata todas aquellas condiciones que no son las más idóneas debido a la presencia de defectos como gotas de polímero o fibras no homogéneas, entre otros. Por este motivo, se ha utilizado el microscopio óptico para realizar una caracterización básica y momentánea. Así pues, a medida que se ha realizado cada uno de los experimentos, se ha ido recogiendo una muestra en un cubreobjetos para cada condición determinada por la variación de los tres parámetros operacionales, expuestos en el Apartado 4.1, los cuales influyen en la morfología de las fibras. Seguidamente, se muestra en la Figura 4-2, la imagen obtenida por microscopia óptica de las fibras de PEG en su condición más idónea.

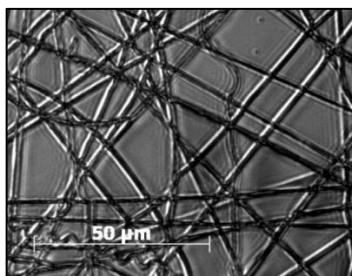


Figura 4-2 Fotografía de las fibras de PEG, en sus condiciones más idóneas, realizada con el OM.

4.1.2. Electrohilado uniaxial de fibras constituidas por una mezcla de PLA+PEG

Primeramente, es necesario determinar la proporción adecuada de la mezcla de los polímeros que componen la cubierta de la fibra coaxial. Ésta tiene como finalidad envolver la fibra que constituye el núcleo y ser la vía de liberación de los bacteriófagos contenidos en esta última. Dicha liberación se producirá a través de la porosidad de la cubierta ocasionada por la pérdida del polímero de sacrificio, en este caso, el PEG, debido a su carácter hidrofílico, lo que lo convierte en un polímero muy soluble en medios fisiológicos.

En segundo lugar, tal y como se ha comentado en el Apartado 4.1.1, uno de los factores determinantes es la elección del disolvente o disolventes. Los polímeros utilizados en la mezcla de polímeros que compone la cubierta tienen distinta afinidad ante la polaridad de las moléculas, siendo así el PLA un polímero hidrofóbico y el PEG un polímero hidrofílico. Por este motivo, se ha llevado a cabo una búsqueda de los posibles disolventes. El resultado se recoge en la Tabla 4-2, en la que se puede observar un conjunto de disolventes capaces de disolver ambos polímeros: cloroformo (CHCl_3), diclorometano (DCM o CH_2Cl_2) y dimetilformamida (DMF).

Tabla 4-2 Solubilidad del PLA y el PEG en determinados disolventes.

DISOLVENTE	PLA	PEG
<i>CHCl_3</i>	Soluble	Soluble
<i>CH_2Cl_2</i>	Soluble	Soluble
<i>DMF</i>	Soluble	Soluble
<i>Agua</i>	Insoluble	Soluble
<i>Etanol</i>	Insoluble	Soluble con calor
<i>Acetona</i>	Insoluble	Soluble

En la elección del disolvente utilizado en la cubierta, también se debe tener en cuenta que se pretende incorporar bacteriófagos en el núcleo de la fibra coaxial, por lo que éste debe ser compatible con la viabilidad de los fagos. De modo que, por un lado, se ha descartado el uso de una mezcla de diclorometano y dimetilformida, DCM/DMF (70:30 %w/w), por su toxicidad e incompatibilidad con la vida de los fagos. Por otro lado, el CHCl_3 es utilizado en tratamientos de purificación de bacteriófagos por lo que es un candidato viable para utilizar como disolvente. Sin embargo, se trata de un disolvente clorado muy volátil, el cual se evapora rápidamente y ocasiona que la mezcla de polímeros se solidifique a la salida de la aguja durante el proceso de *electrospinning* y se dificulte la obtención de fibras. Por esta razón, se ha planteado utilizar como disolvente mezclas como la de CHCl_3 :Etanol 3:1 (v:v) o la de CHCl_3 :Acetona 2:1 (v:v) para disminuir la volatilidad del disolvente al reducir la cantidad de cloroformo en este. Consecuentemente, se ha optado por utilizar en los ensayos la mezcla de CHCl_3 :Acetona 2:1 (v:v), puesto que contiene una menor proporción de cloroformo y, por lo tanto, su volatilidad será menor. Además, pese a ser utilizado en tratamientos de purificación de fagos, el CHCl_3 puede disminuir la actividad de estos por lo que es una razón más para utilizar la mezcla que contiene menos proporción de CHCl_3 .

Con la mezcla de CHCl_3 :Acetona 2:1 (v:v) como disolvente, se ha realizado 12 experimentos para cada una de las cuatro mezclas de PLA+PEG recogidas en la Tabla 4-3. En este caso, se ha decidido reducir la variación tanto de la distancia aguja-colector (15 y 22,5 cm) como la variación del flujo de salida (2,5 y 5 mL/h) a dos únicos valores teniendo en cuenta los resultados obtenidos para las fibras uniaxiales de PEG. Se ha seguido el mismo procedimiento, explicado en el Apartado 4.1.1, para los 48 experimentos.

Con respecto a la concentración del polímero en la disolución, se ha fijado al 10% en peso y se ha variado la proporción de la mezcla PLA+PEG contenido en este porcentaje. Con la concentración definida y la densidad del disolvente escogido, se ha conseguido una viscosidad ideal para las diferentes muestras lo que ha facilitado la obtención de fibras a diferentes condiciones.

Por último, a lo largo de este TFG, se ha mantenido constante el diámetro de la aguja exterior que determina la cubierta de la fibra coaxial. La aguja empleada ha sido la *Terumo* 14G con diámetros de 2,2mm (\varnothing_{EXT}) y 1,6mm (\varnothing_{INT}).

4.1.2.1. Preparación de las mezclas PLA+PEG: 9/1; 8/2; 7/3; 5/5

El PEG es un polímero mucho más hidrofílico que el PLA, por esta razón se ha decidido preparar una serie de mezclas de ambos polímeros en diferentes proporciones con la intención de obtener una gama de fibras con diferente afinidad ante la distinta polaridad de las moléculas, siendo las fibras más hidrofóbicas las que contienen una mayor proporción de PLA y las más hidrofílicas las que contienen una mayor proporción de PEG. Para realizar las diferentes mezclas se ha empleado el PEG35000, por el motivo expuesto en el Apartado 4.1.1.

Las mezclas PLA+PEG escogidas han sido la 9/1, 8/2, 7/3 y 5/5 (%w/w). Siendo el primer valor numérico la concentración de PLA y el segundo, la de PEG, en la disolución polimérica. Para ejemplificar la preparación de las diferentes muestras, se usará como ejemplo la correspondiente a la mezcla PLA/PEG 7/3 (%w/w) de la Tabla 4-3. Los valores que siguen corresponden a una disolución con un peso total de 10g. A continuación, se detalla paso a paso el procedimiento seguido:

1. Pesar 0,7g de PLA en un vial mediante una balanza analítica.
2. Añadir, con ayuda de una pipeta Pasteur y una pera de succión, el disolvente CHCl_3 :Acetona 2:1 (v:v) hasta alcanzar los 5 g. Tapar y sellar con parafilm el vial.
3. Pesar 0,3 g de PEG35000 en un vial nuevo mediante una balanza analítica.
4. Repetir el segundo paso.
5. Dejar ambos viales en agitación durante 24h a una temperatura constante de 37°C.
6. Depositar el contenido de uno de los viales en el otro y homogenizar la mezcla con ayuda de un mezclador de vórtice.

4.1.2.2. Condiciones operacionales

Las cuatro mezclas descritas se han sometido a la técnica del *electrospinnig* y teniendo en cuenta los requisitos para la parametrización, descritos en el Apartado 4.1, se ha establecido las condiciones más idóneas para la obtención de fibras de cada mezcla. A continuación, en la Tabla 4-3, se muestran los parámetros operacionales seleccionados para las cuatro mezclas PLA+PEG empleadas.

Tabla 4-3 Condiciones más idóneas de operación de las cuatro mezclas de PLA+PEG.

PLA+PEG %w_{PLA}/w_{PEG}	PLA+PEG-CHCl₃/Acetona (2v:1v) %w/w/w	Voltaje (kV)	Flujo (mL/h)	Distancia aguja-colector (cm)
9/1	9,0:1,0:90,0	18	2,5	22,5
8/2	8,0:2,0:90,0	18	2,5	22,5
7/3	7,0:3,0:90,0	20	3	22,5
5/5	5,0:5,0:90,0	22	3	22,5

En la Tabla 4-3, se puede observar como a medida que las mezclas contienen una mayor proporción de PEG se requiere un voltaje mayor. Esto se debe a que al variar la proporción de los polímeros en la disolución varían ligeramente parámetros de la disolución como la viscosidad, lo que ocasiona una modificación en el resto de parámetros.

4.1.2.3. Análisis mediante OM

Tal y como se ha explicado en el Apartado 4.1.1.1, el OM se ha utilizado únicamente para realizar una caracterización básica y momentánea con el fin de determinar las condiciones ópticas de los diferentes experimentos. Seguidamente, se muestra en la Figura 4-3 las imágenes obtenidas por microscopía óptica de las cuatro mezclas PLA+PEG en sus condiciones más idóneas, recogidas en la Tabla 4-3.

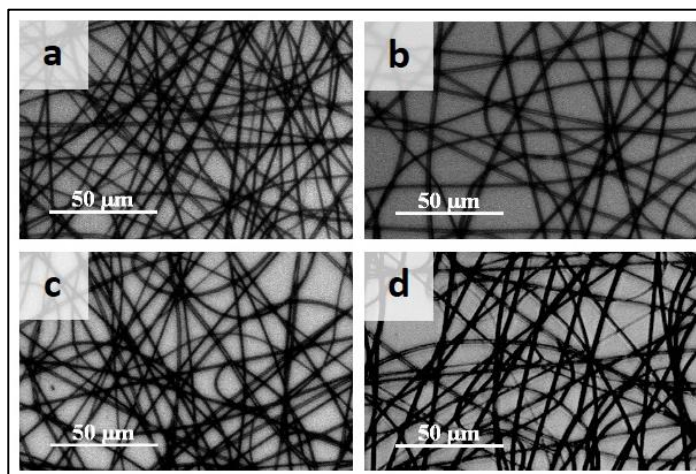


Figura 4-3 Fotografías obtenidas con el OM de las mezclas 9/1 (a), 8/2 (b), 7/3 (c) y 5/5 (d) en sus condiciones más idóneas.

Cuando las fibras de mezclas de PLA+PEG se pongan en contacto con un medio hidrofílico, el PEG se solubilizará dando lugar a la formación de poros en la cubierta. Contra mayor sea la proporción de PEG en la mezcla, mayor porosidad habrá en la cubierta [55]. No obstante, se ha decidido trabajar con la mezcla 7/3 puesto que es la mezcla con mejor proporción en cuanto a cantidad de PEG y PLA, el cual dará consistencia a la fibra cuando esta se ponga en contacto con el medio hidrofílico.

4.1.2.4. Morfología y diámetro de las fibras de PLA+PEG 7/3

Se ha realizado un pequeño estudio de la morfología de las fibras, que constituirán la cubierta de la fibra coaxial, antes y después de haber perdido gran parte del polímero hidrofílico al sumergir la matriz fibrosa en agua durante 24 horas. A continuación, en la Figura 4-4, se muestra las micrográficas obtenidas con el microscopio electrónico de barrido (SEM), antes y después de la inmersión en agua.

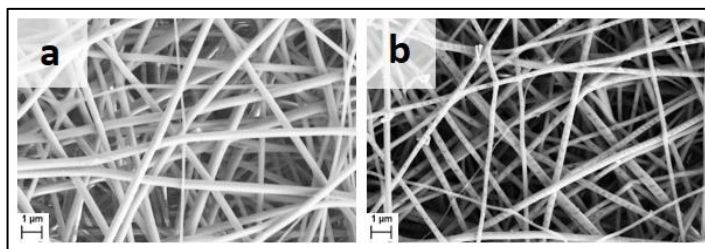


Figura 4-4 Morfología antes (a) y después (b) de la inmersión en agua de las fibras uniaxiales PLA+PEG 7/3.

En la Figura 4-4, se puede observar como la superficie de la cubierta ha pasado de ser lisa (Figura 4-4a) a tener una superficie porosa (Figura 4-4b). Seguidamente, se han realizado entre 70 y 100 medidas de los diámetros de las fibras de la matriz mediante el programa Carl Zeiss SmartTiff y se han procesado con el programa Origin Pro 8.0. En la Tabla 4-4, se muestra el diámetro medio de las fibras con su desviación estándar y en la Figura 4-5 la distribución normal de los diámetros de las fibras.

Tabla 4-4 Diámetro medio y desviación estandar de las fibras uniaxiales de PLA+PEG 7/3.

MATRIZ	Ø(µm)
PLA+PEG 7/3	1,0 ± 0,1

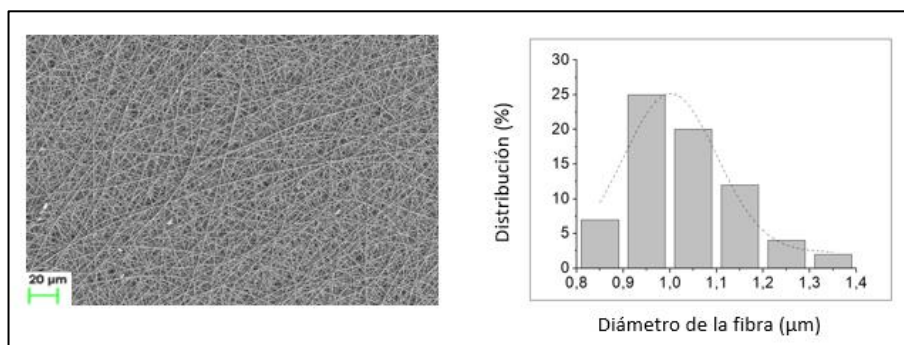


Figura 4-5 Morfología y la distribución de los diámetros de las fibras uniaxiales PLA+PEG 7/3.

4.2. Fibras coaxiales constituidas por un núcleo de PEG y una cubierta de PLA o una mezcla de PLA+PEG

4.2.1. Condiciones operacionales para la obtención de fibras coaxiales

Tal y como se ha explicado en el Apartado 4.1, se ha utilizado la técnica convencional para determinar las condiciones operacionales más idóneas de fibras de PEG (núcleo) y de una mezcla PLA+PEG (cubierta). Dichas condiciones servirán de punto de partida para la obtención de fibras coaxiales con las mismas características núcleo-cubierta. En la Tabla 4-5, se recogen los parámetros establecidos para la obtención de las fibras uniaxiales.

Tabla 4-5 Condiciones más idóneas determinadas por electrospinning uniaxial del núcleo y la cubierta.

	Voltaje (kV)	Flujo (mL/h)	Distancia aguja-colector (cm)
Núcleo	25	5	22,5
Cubierta	20	2,5	22,5

Siendo el núcleo una disolución de PEG en H₂O al 50% (%w_{POL}/w_{SOL}) y la cubierta una disolución de PLA/PEG 7/3 en CHCl₃:Acetona 2:1 (v:v) al 10% (%w_{POL}/w_{SOL}).

Como se puede observar en la Tabla 4-5, para ambos casos la distancia aguja-colector es de 22,5 cm por lo que se ha decidido fijar este valor para los 6 experimentos definidos por el flujo de salida (2,5; 5 y 10 mL/h) y el voltaje (20 y 25 kV). El procedimiento seguido para cada experimento ha sido fijar primero uno de los tres valores de flujo y, después, variar el voltaje aplicado.

Durante la realización de los experimentos, las fibras obtenidas por *electrospinning* quedaban suspendidas verticalmente entre la aguja y el colector, imposibilitando la recolecta de una matriz fibrosa bicomponente. Para analizar y realizar una caracterización de las fibras coaxiales es indispensable recolectar. Por esta razón, para mejorar el comportamiento del *jet* y evitar la formación de fibras verticales, se ha realizado los siguientes cambios en el orden en el que se presentan:

1. Reducir la viscosidad de la disolución del núcleo disminuyendo la concentración del PEG.
2. Añadir 0,09% peso a volumen de NaCl en la disolución del núcleo para mejorar su conductividad y salinidad.
3. Cambiar el disolvente del núcleo por un disolvente compatible con la actividad de los fagos y de mayor volatilidad.

En primer lugar, se ha experimentado con concentraciones de 40, 30 y 25% de PEG en la disolución del núcleo. Pese a disminuir la viscosidad y, por lo tanto, facilitar que la solución de la cubierta arrastre mediante las fuerzas viscosas la solución del núcleo, el comportamiento del *jet* no ha mejorado y no se ha conseguido recolectar las fibras electrohiladas. Seguidamente, se ha procedido a repetir los ensayos para una concentración al 40% (%w/w) de PEG con un 0,09% (%w/v) de NaCl. Teóricamente, con el aumento de la conductividad y salinidad de la solución polimérica del núcleo, se debería mejorar el comportamiento del *jet*. Sin embargo, los resultados experimentales no han variado en gran medida. El comportamiento inestable del *jet*, observado en los anteriores ensayos, posiblemente se deba a la diferencia de volatilidad que hay entre los disolventes utilizados, siendo el H₂O un disolvente poco volátil y el CHCl₃ muy volátil, tal y como se ha explicado en los apartados 4.1.1 y 4.1.2. Por esta razón, se ha decidido cambiar el disolvente del núcleo. Como se ha comentado en el Apartado 4.1.2, el CHCl₃ es un disolvente orgánico utilizado en algunos tratamientos de purificación de bacteriófagos. Por lo que, a pesar de que puede reducir el carácter bactericida de los fagos, se ha escogido como el nuevo disolvente del núcleo.

La densidad del CHCl₃ es mayor que la del agua, por lo que se ha decidido reducir la concentración del PEG al 25% (%w_{POL}/w_{SOL}) para obtener una viscosidad adecuada en la disolución. Con estos últimos cambios, se ha podido obtener fibras mediante *electrospinning* y recolectar en unas condiciones idóneas. A partir de aquí, se ha utilizado en el núcleo, de las distintas matrices coaxiales, la siguiente solución polimérica: PEG en CHCl₃ al 25% (%w_{POL}/w_{SOL}).

Una vez, se ha realizado los ensayos pertinentes para la matriz PEG/PLA+PEG, se ha decidido estudiar las diferencias que hay al utilizar un único homopolímero en la cubierta. Existen dos combinaciones posibles:

1. PEG/PEG: matriz compuesta por un núcleo de PEG y una cubierta de PEG.
2. PEG/PLA: matriz compuesta por un núcleo de PEG y una cubierta de PLA.

En el caso de la primera matriz, PEG/PEG, al ser el PEG un polímero hidrolítico, al realizar la inmersión de las matrices en agua éstas se disolverían totalmente y, en consecuencia, no habría manera de determinar por su morfología si las fibras obtenidas son o no coaxiales, es decir, si cumplen su función de encapsular a los fagos. En cambio, la segunda matriz, PEG/PLA, al ser el PLA un polímero hidrofóbico es posible realizar un estudio de la pérdida de masa y observar la morfología de las fibras mediante SEM. Para la preparación de la disolución polimérica de la cubierta de la matriz PEG/PLA se ha utilizado una concentración del PLA al 7% (%w_{POL}/w_{SOL}) y la mezcla CHCl₃:Acetona 2:1 (v:v) como disolvente.

En la Tabla 4-6, se recoge las mejores condiciones de los 6 experimentos de cada una de las matrices obtenidas por *electrospinning* coaxial:

Tabla 4-6 Condiciones operacionales de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG.

MATRIZ	Distancia aguja-colector (cm)	Voltaje (kV)	Flujo (mL/h)
PEG/PLA	22,5	25	2,5
			5
PEG/PLA+PEG	22,5	25	2,5
		27	5

A continuación, en la Figura 4-6, se presentan las imágenes obtenidas por microscopía óptica de cada una de las matrices en ambas condiciones, recogidas en la Tabla 4-6.

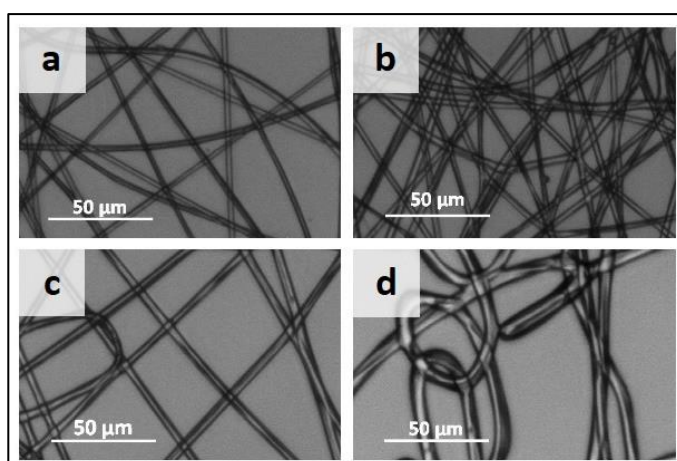


Figura 4-6 Fotografías obtenidas con el OM de las matrices PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 2,5 mL/h y (d) 5 mL/h.

4.2.2. Morfología y diámetro de las fibras coaxiales

Por una parte, se ha realizado el análisis de la morfología de las fibras electrohiladas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Esta técnica nos ha permitido observar en detalle la superficie de las fibras de las matrices recolectadas y observar diferentes características como son la rugosidad, la porosidad, la presencia de canales o grietas, entre otras. En la Figura 4-7, se muestran diferentes características en cuanto a la morfología de las matrices observadas en las micrografías obtenidas mediante SEM.

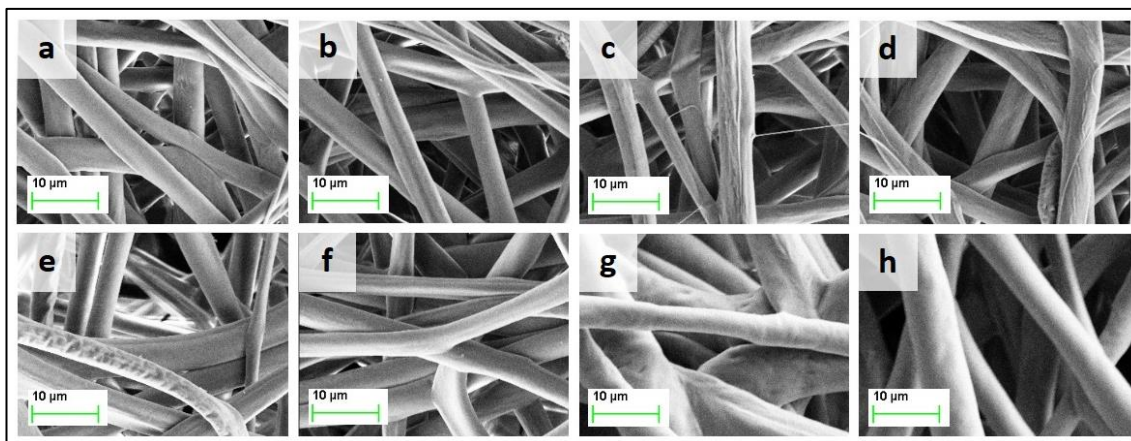


Figura 4-7 Características morfológicas más representativas observadas con el SEM de las matrices PEG/PLA, (a)-(b) 2,5 mL/h y (c)-(d) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (e)-(f) 2,5 mL/h y (g)-(h) 5 mL/h.

Con respecto a la matriz PEG/PLA, la mayoría de las fibras se caracterizan por tener una superficie lisa, Figura 4-7a-b. En cambio, en la Figura 4-7c-d, las fibras presentan una mayor rugosidad en la superficie. Para la matriz PEG/PLA+PEG, también se aprecia el carácter liso de una gran cantidad de fibras. Aunque, algunas de ellas presentan pliegues (Figura 4-7e) y poros en la cubierta (Figura 4-7h).

Por otra parte, a partir de las fotografías obtenidas mediante SEM, se ha realizado un análisis cuantitativo de los diámetros de las fibras y su distribución. A partir de este análisis, se puede determinar mediante la distribución de las medidas de los diámetros si las fibras en la matriz son uniformes y obtener un valor del diámetro medio que las caracteriza. Por consiguiente, se ha medido los diámetros de un número significativo de fibras para cada matriz y condición. Se ha realizado entre 60-100 medidas para obtener una estadística representativa de la distribución de diámetros. Para ello, se ha evitado medir repetidamente la misma fibra y se ha realizado medidas de los diámetros de fibras en diferentes zonas de la matriz. Para la medida de los diámetros se ha utilizado el programa Carl Zeiss SmartTiff. Dichos valores se han tratado mediante el programa Origin Pro 8.0., el cual permite analizar la distribución de diámetros y representarlas gráficamente. A continuación, en la Figura 4-8, se muestran las micrografías de las fibras de cada una de las matrices en sus dos condiciones con su respectivo grafico del análisis de distribución de diámetros.

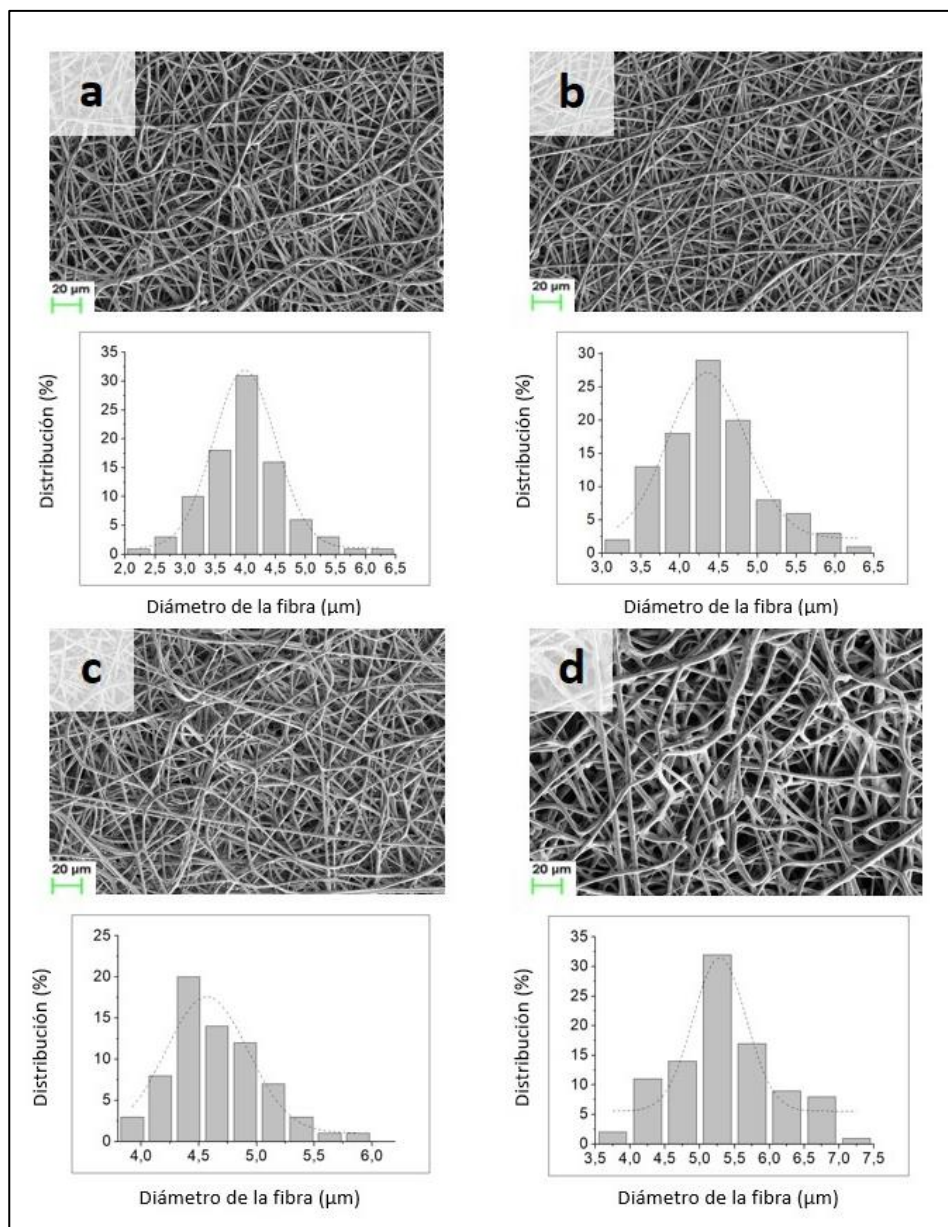


Figura 4-8 Morfología y distribución de diámetros de las fibras PEG/PLA, (a) a 2,5 mL/h y (b) a 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) a 2,5 mL/h y (d) a 5 mL/h.

Por un lado, en las Figuras 4-8a-b, se observa que para las matrices de PEG/PLA se obtiene una distribución unimodal, es decir, las medidas de los diámetros muestran una curva simétrica semejante a la correspondiente a una distribución normal. En las micrografías no se observan defectos.

Por otro lado, en la matriz PEG/PLA+PEG a 5 mL/h, Figura 4-8d, se puede observar que la distribución presenta una mayor dispersión de los datos que en la de 2,5 mL/h, Figura 4-8c. Dicha dispersión se debe a los defectos que se pueden observar en la micrografía. Los cuales ocasionan una mayor heterogeneidad en las fibras.

Posiblemente, durante el proceso de electrohilado, el cono de Taylor no ha sido estable. Por consiguiente, las condiciones operacionales de 5 mL/h y 27 kV no acaban de ser las más idóneas para la obtención de fibras coaxiales de PEG/PLA+PEG.

A continuación, se recoge en la Tabla 4-7 el valor del diámetro medio con su desviación estándar para cada matriz y condición.

Tabla 4-7 Diámetros de las fibras coaxiales PEG/PLA y PEG/PLA+PEG en las dos condiciones experimentadas.

MATRIZ	Flujo (mL/h)	Ø_{INICIAL} (µm)
PEG/PLA	2,5	4,0 ± 0,7
	5	4,5 ± 0,6
PEG/PLA+PEG	2,5	4,7 ± 0,4
	5	5,4 ± 0,7

Por un lado, en la Tabla 4-7, se puede observar que tanto para la matriz PEG/PLA y la PEG/PLA+PEG los diámetros en las condiciones de 5 mL/h son mayores que los obtenidos con un flujo de salida de 2mL/h. A medida que el caudal aumenta, la masa de la gota a la salida de la aguja también. Al mantener fija la distancia aguja-colector y el voltaje aplicado, el campo eléctrico al que se somete la gota de polímero es el mismo. Es decir, tanto a 5 mL/h como a 2,5 mL/h se ha aplicado la misma fuerza de estiramiento que ejerce el campo eléctrico. Por lo tanto, en este caso, a medida que el caudal aumente, el diámetro de las fibras también lo hará. No obstante, la diferencia de diámetro entre las matrices de PEG/PLA+PEG también se ha visto influida por los defectos que presenta la matriz con un flujo de 5 mL/h. Por otro lado, se puede comprobar como los diámetros de la matriz PEG/PLA+PEG son superiores a los de la matriz PEG/PLA puesto que la concentración de polímero en la cubierta es mayor.

Finalmente, los diámetros obtenidos concuerdan con lo observado en el OM, Figura 4-6, donde se aprecia una notable diferencia en el grosor de las fibras de la matriz PEG/PLA+PEG a 5 mL/h con las del resto de matrices, las cuales presentan entre ellas un ancho similar.

4.2.3. Estudio de la estabilidad de las fibras por remoción del PEG

4.2.3.1. Pérdida de peso de las fibras

Dado que el PLA y el PEG son polímeros con diferente solubilidad en agua, se ha procedido a estudiar el efecto de la remoción del PEG mediante la inmersión en agua de las microfibras de PEG/PLA y PEG/PLA+PEG durante 24 horas. El PEG es un polímero hidrofílico por lo que es considerado un material soluble en agua mientras que el PLA es totalmente insoluble por su carácter hidrofóbico. Por lo tanto, se quiere determinar si la disolución del PEG en agua es total o parcial dependiendo del tipo de fibra estudiada y si está remoción del PEG tiene algún efecto en la forma y/o superficie de la fibra.

En el Apartado 3.6, se expone el procedimiento que se ha seguido para realizar el estudio de la estabilidad de las fibras por la pérdida de masa como consecuencia de la solubilización del PEG. A través de dicho procedimiento, se ha obtenido un peso inicial ($m_{INICIAL}$) de cada matriz antes de ser sumergida en agua y el peso final (m_{FINAL}) de la matriz seca después de la inmersión.

La pérdida de peso experimental por solubilización del PEG se ha calculado mediante la ecuación (Ec.1):

$$\%PEG_{Removido} = \frac{m_{i\ PEG} - m_{f\ PEG}}{m_{i\ PEG}} \cdot 100 \quad (Ec. 1)$$

Dónde $m_{i\ PEG}$ (Ec.2) y $m_{f\ PEG}$ (Ec.3) se calcula mediante las siguientes ecuaciones:

$$m_{i\ PEG} = m_{INICIAL} \cdot x_{PEG} \quad (Ec. 2)$$

$$m_{f\ PEG} = m_{FINAL} - m_{i\ PLA} \quad (Ec. 3)$$

Se ha optado por estudiar la pérdida de masa de PEG en función de la relación de masa de PEG que contiene cada composición de fibras puesto que las matrices obtenidas se diferencian por la composición de la cubierta. Así pues, para la matriz PEG/PLA (cubierta compuesta por un polímero hidrofóbico) la relación de masa del PEG es de 25/32 ($x_{PEG}=0,78$) y para la matriz PEG/PLA+PEG (cubierta compuesta por una mezcla de polímeros de distinta afinidad ante la polaridad de las moléculas) es de 28/35 ($x_{PEG}=0,80$). Los porcentajes de PEG removidos para cada matriz en sus dos condiciones se recogen en la Tabla 4-8.

Tabla 4-8 Porcentajes de PEG removido de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG.

MATRIZ	Flujo (mL/h)	%PEG _{REMOVIDO}
PEG/PLA	2,5	95,29
	5	93,92
PEG/PLA+PEG	2,5	97,14
	5	99,85

A continuación, se muestra en la Figura 4-9 la relación entre el porcentaje de PEG removido y la relación de masa del PEG en las matrices.

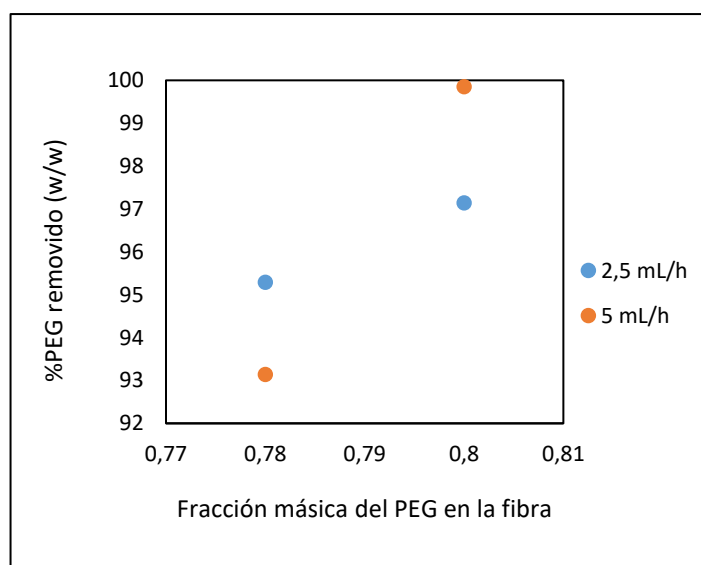


Figura 4-9 Relación entre del porcentaje de PEG removido y la fracción másica de PEG en ambas matrices.

Tal y como se observa en la Figura 4-10, la matriz de fibras coaxiales donde la cubierta está compuesta únicamente por PLA el porcentaje de PEG removido es menor que las fibras coaxiales donde la cubierta está compuesta por la mezcla PLA+PEG. Esto se debe al hecho que el carácter hidrofóbico del PLA dificulta la extracción del PEG que se encuentra formando el núcleo de la fibra coaxial. Por el contrario, la matriz con cubierta PLA+PEG, al ponerse en contacto con el agua, ha perdido el PEG de la cubierta y ha provocado un aumento de la porosidad de la cubierta, lo que ha facilitado la remoción del PEG contenido en el núcleo.

No obstante, en el caso de la matriz PEG/PLA+PEG a 5 mL/h la remoción de PEG ha sido prácticamente total debido a la apertura longitudinal que han sufrido la mayoría de sus fibras, tal y como se mostrará en las imágenes obtenidas mediante SEM después de poner la matriz en contacto con el agua. Esto implica que, a pesar de haber sido obtenidas por *electrospinning* coaxial, no son coaxiales.

4.2.3.2. Cambios en la morfología de las fibras mediante SEM

Después de poner en contacto diferentes muestras de cada matriz con un medio hidrofílico como es el agua, se ha procedido a examinar de nuevo las fibras mediante el SEM para determinar el efecto que causa en la morfología de las fibras la eliminación significativa del polímero de sacrificio, el PEG. Es lógico esperar cambios morfológicos en la superficie o severos daños debido a la posición del PEG en el núcleo. En la Figura 4-10, se muestran las microfotografías de las fibras después de la solubilización del PEG.

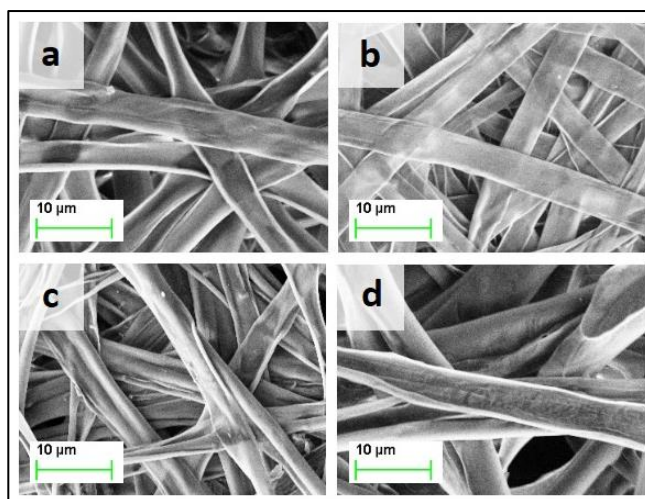


Figura 4-10 Morfología de las matrices PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 2,5 mL/h y (d) 5 mL/h, después de la inmersión en agua.

En las micrografías obtenidas mediante SEM, se puede apreciar una gran diferencia en la morfología de las fibras que son coaxiales y las que no lo son, como las de la matriz PEG/PLA+PEG a 5 mL/h, después de la inmersión en agua. En las Figuras 4-10a-b, se observa como las fibras de PEG/PLA han sufrido la pérdida del polímero hidrofílico del núcleo y se han vaciado. En la Figura 4-10c, también se puede observar el mismo carácter aplastado en las fibras de PEG/PLA+PEG a 2,5 mL/h. Por el contrario, en la Figura 4-10d, se observa como las fibras, de la matriz PEG/PLA+PEG a 5 mL/h, presentan aperturas longitudinales y grietas.

Durante el proceso de *electrospinning*, es imprescindible que las agujas que conforman la boquilla coaxial estén dispuestas concéntricamente para que el núcleo sea envuelto uniformemente. El hecho de que las agujas no están concéntricas provoca que la presión hidrostática, a la que es sometida la fibra durante el proceso de solubilización del PEG, ocasione aperturas longitudinales o grietas en las zonas donde el grueso de la cubierta es menor.

4.2.3.3. Variación de los diámetros

Al igual que se ha analizado los diámetros de las fibras antes de la inmersión a partir de las microfotografías obtenidas mediante el SEM, en el Apartado, se ha realizado de nuevo un análisis para determinar el nuevo diámetro de las fibras después de la inmersión. En la Figura 4-11, se muestran las micrografías de las matrices, así como su distribución de tamaño tras la remoción en agua de los casos en los que ha sido posible realizar las medidas de los diámetros.

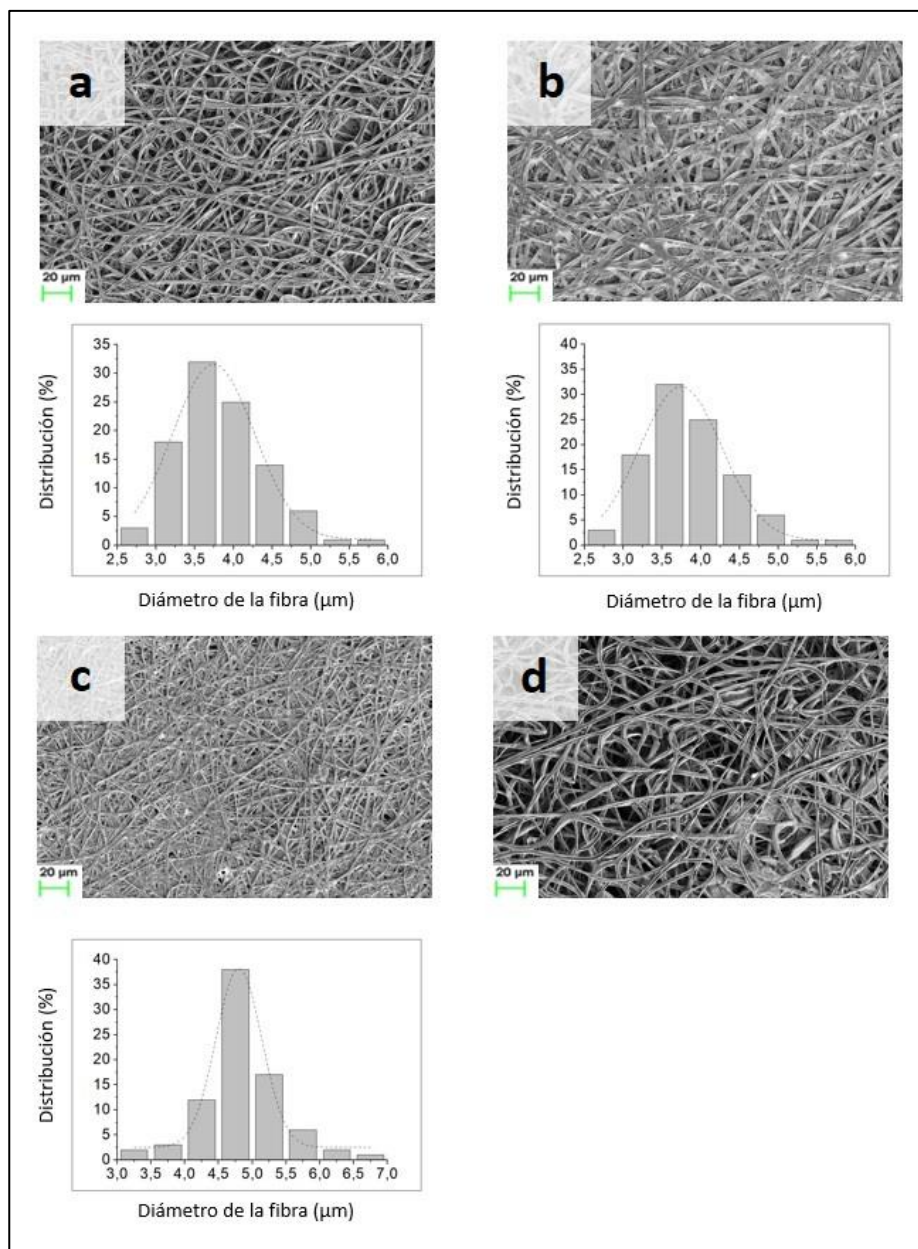


Figura 4-11 Morfología y distribución de diámetros después de la inmersión en agua de las fibras coaxiales PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 2,5 mL/h y (d) 5 mL/h.

En las Figura 4-11a-b, se aprecia una distribución normal para las matrices de PEG/PLA. Esto concuerda con lo explicado en el Apartado 4.2.3.2, donde se ha observado como la morfología de las fibras presentan un aspecto aplanado sin indicios de haber sufrido aperturas en la cubierta, lo que indica que la fibra coaxial se ha formado correctamente (envoltura uniforme). En la Figura 4-11c, de la misma manera, se aprecia una distribución que se ajusta la campana de Gauss, lo que indica que las condiciones de 2,5 mL/h son las más idóneas para la matriz PEG/PLA+PEG.

Por el contrario, no ha sido posible realizar las medidas de los diámetros de la matriz PEG/PLA+PEG a 5 mL/h, Figura 4-11d, debido a la heterogeneidad de las fibras después de la inmersión, lo que indica que existen diferentes poblaciones de fibras en la misma matriz y, por lo tanto, la solubilización del PEG en el agua no ha afectado a todas de la misma manera.

A continuación, se recoge en la Tabla 4-9 el valor del diámetro medio con su desviación estándar antes y después de la solubilización del PEG para cada matriz y condición.

Tabla 4-9 Comparación de los diámetros de las fibras antes y después de la inmersión en agua.

MATRIZ	Flujo (mL/h)	Ø_{INICIAL} (µm)	Ø_{TRAS REMOVER} (µm)	ΔØ (µm)
PEG/PLA	2,5	4,0 ± 0,7	4,8 ± 0,7	(+) 0,8
	5	4,5 ± 0,6	3,9 ± 0,6	(-) 0,6
PEG/PLA+PEG	2,5	4,7 ± 0,4	4,9 ± 0,6	(+) 0,2
	5	5,4 ± 0,7	---	---

Antes de la inmersión, la mayoría de las fibras se caracterizan por tener una forma tubular que al ponerse en contacto con el agua (pérdida del polímero hidrofílico situado en el núcleo) sufren un aplastamiento, lo que explica el aumento del diámetro en las matrices. A excepción de la matriz PEG/PLA a 5 mL/h que sufren una reducción en el diámetro. Una explicación posible es que al ser extraído el PEG del núcleo por remoción, las fibras se han contraído.

En conclusión, las dos condiciones de la matriz PEG/PLA no presentan grandes diferencias. Es por esto por lo que se prioriza minimizar el tiempo de recolecta y se establece como condición más idónea el flujo de 5 mL/h. Asimismo, debido a la mala formación de las fibras coaxiales a 5 mL/h, se establece como más idónea la matriz recolectada a 2,5 mL/h. Se debe tener en cuenta que para ambas matrices seleccionadas se ha trabajado con un voltaje de 25 kV y una distancia aguja-colector de 22,5 cm.

Finalmente, las matrices seleccionadas serán las que se utilizarán para el análisis mediante FT-IR y el estudio de inhibición del crecimiento bacteriano por la liberación de los fagos.

4.3. Encapsulación de bacteriófagos en fibras coaxiales constituidas por un núcleo de PEG y una cubierta de PLA o una mezcla de PLA+PEG

Para encapsular los bacteriófagos en las fibras coaxiales se requiere preparar las siguientes disoluciones: PEG en CHCl_3 al 25% (%w/w) y una de PEG en *Phagestaph*TM al 25% (%w/w), siguiendo el procedimiento explicado en el Apartado 3.3.

Como se ha comentado en el Apartado 4.2.1, el CHCl_3 puede reducir la actividad de los fagos. Por este motivo, se han realizado dos mezclas con distinta proporción volumétrica de las disoluciones preparadas, explicado en el Apartado 3.8.1. Durante el proceso de *electrospinning* de ambas disoluciones, se ha observado la formación de dos fases en la disolución: una fase orgánica (CHCl_3) y una acuosa (*Phagestaph*TM). Solo ha sido posible electrohilar la fase orgánica de ambas disoluciones puesto que durante la fase acuosa solo se formaban gotas o una mezcla de gotas y pequeñas fibras. Este hecho puede implicar que una cantidad indeterminada de bacteriófagos hayan sido adsorbidos por la fase acuosa y, en consecuencia, se vea reducida la inhibición al poner en contacto las matrices con el cultivo bacteriano.

Una vez se han recolectado las dos matrices fibrosas, se ha procedido a realizar el método cualitativo para determinar cuál de las dos disoluciones poliméricas muestra más actividad de los fagos después de ser sometidas a la técnica de *electrospinning*, descrito en el Apartado 3.8.2. La disolución escogida ha sido: PEG en CHCl_3 :*Phagestaph*TM 1:1 (v:v) al 25% (%w/w). Por consiguiente, será la solución que constituirá el núcleo de las fibras coaxiales que encapsularán a los bacteriófagos.

Se ha procedido a realizar los 6 experimentos descritos en el Apartado 4.2.1, pero con la incorporación de los bacteriófagos en el núcleo de las fibras coaxiales. A continuación, se presenta en la Tabla 4-10 las condiciones operacionales de cada una de las matrices cargadas obtenidas por *electrospinning* coaxial:

Tabla 4-10 Condiciones más idóneas de las matrices cargadas, PEG/PLA y PEG/PLA+PEG, por *electrospinning* coaxial.

MATRIZ	Distancia aguja-colector (cm)	Voltaje (kV)	Flujo (mL/h)
PEG/PLA	22,5	25	2,5
			5
PEG/PLA+PEG	22,5	27	5

Contrario al Apartado 4.2.1, para unas condiciones de 2,5 mL/h no ha sido posible electrohilar la matriz PEG/PLA+PEG con bacteriófagos incorporados a causa de una alta inestabilidad en el cono de Taylor. Sin embargo, este se mantuvo estable para unas condiciones de flujo de 5 mL/h. Para la matriz PEG/PLA se ha decidido volver a recolectar en ambas condiciones. En general, las condiciones se han mantenido o han variado ligeramente con respecto a las condiciones de las fibras coaxiales sin cargar, Apartado 4.2.1.

A continuación, en la Figura 4-12, se muestran las imágenes obtenidas por microscopia óptica de las matrices en las condiciones recogidas en la Tabla 4-10.

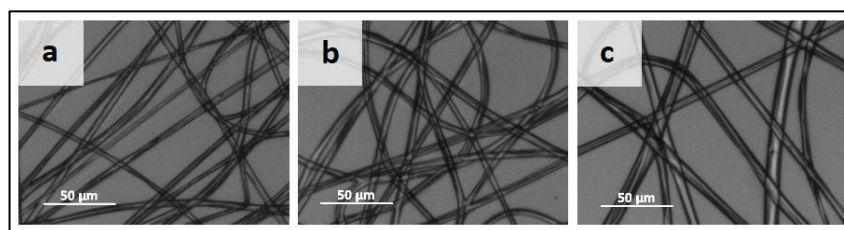


Figura 4-12 Fotografías obtenidas con el OM de las matrices cargadas PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h.

4.3.1. Morfología y diámetro de las fibras coaxiales

Mediante imágenes obtenidas con el microscopio electrónico de barrido (SEM), se ha analizado la morfología de las fibras con bacteriófagos incorporados en el núcleo para observar si los fagos han originado cambios en las características superficiales de las fibras sin fagos o una variación drástica en su diámetro.

En la Figura 4-13a, se observa que la matriz PEG/PLA se caracteriza por tener unas fibras lisas y, algunas de ellas presentan una forma aplanada en vez de circular. En la Figura 4-13b, se observa la misma forma aplanada y la presencia de estrías en la superficie de algunas fibras. Además, se aprecia una mayor diversidad en los diámetros, lo que se ha quedado reflejado en la distribución (Figura 4-14b) y la dispersión de las medidas (Tabla 4-11). Para el caso de la matriz PEG/PLA+PEG, Figuras 4-13c-d, las fibras generalmente tienen un carácter liso y una forma circular. No obstante, se puede observar como algunas fibras presentan pliegues en su superficie. En general, no se ha observado un cambio drástico en comparación con la morfología de las fibras sin fagos, Apartado 4.2.2.

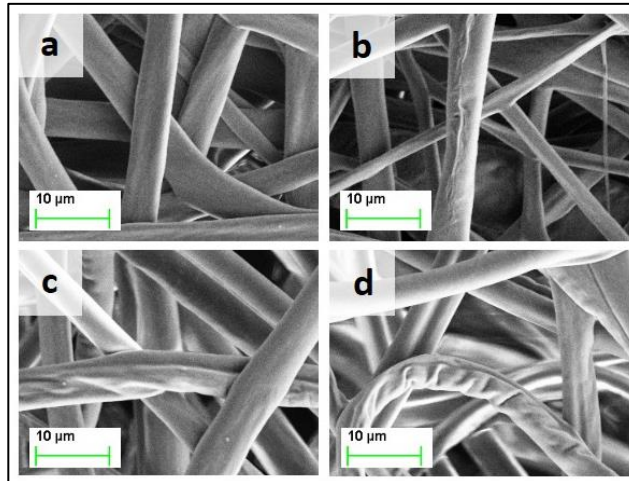


Figura 4-13 Características morfológicas observadas con el SEM de las matrices cargadas PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c)-(d) 5 mL/h cargadas con bacteriófagos.

Seguidamente, se ha procedido a analizar la distribución de diámetro de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG para determinar que la incorporación de los fagos no afecta a la homogeneidad de la matriz. En la Figura 4-14, se muestra las micrografías de las fibras junto con el gráfico del análisis de la distribución de diámetros.

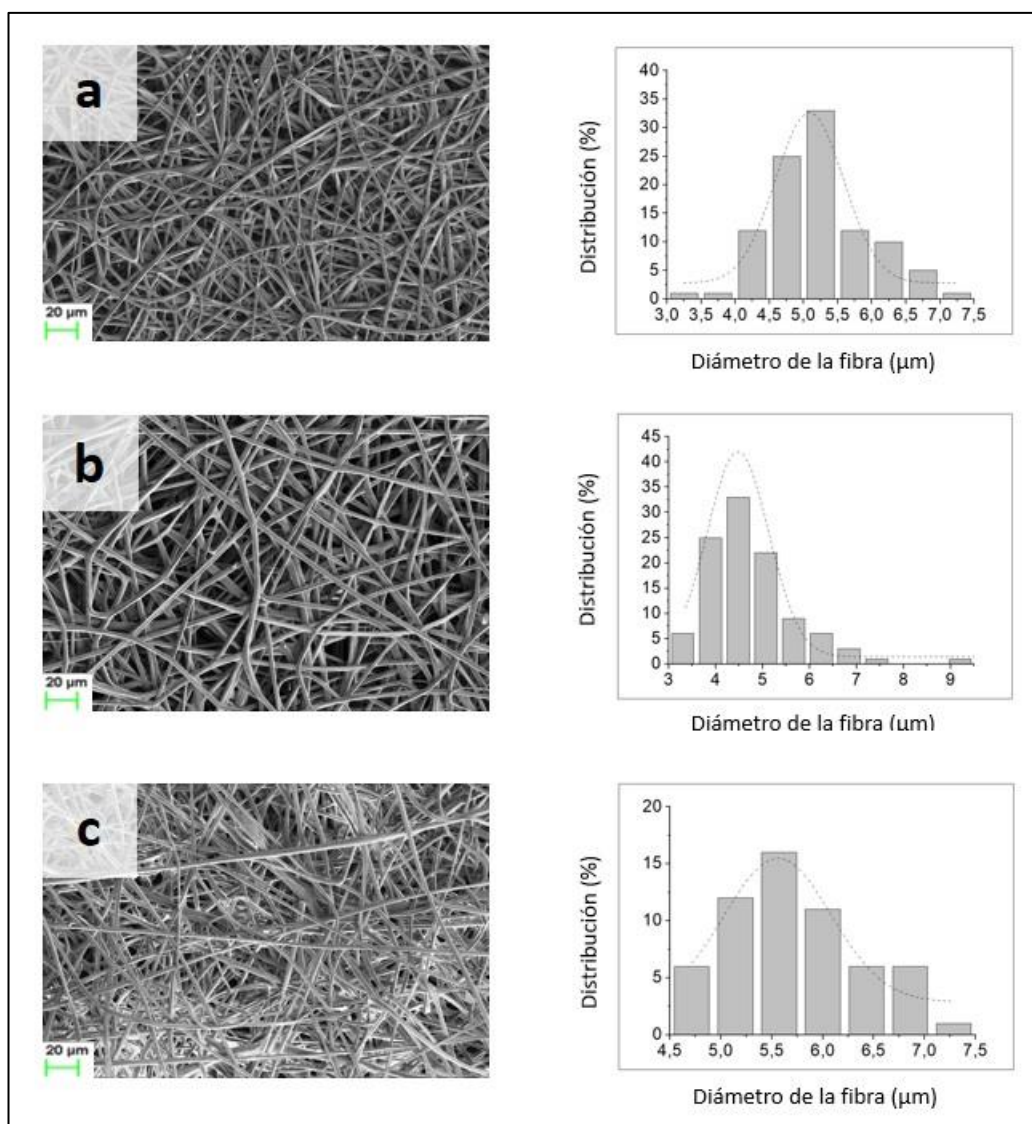


Figura 4-14 Morfología y distribución de diámetros de las fibras coaxiales con bacteriófagos incorporados PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h, con bacteriófagos incorporados en el núcleo de la fibra.

En la Tabla 4-11 se recogen los valores medios del diámetro de las fibras cargadas y se comparan con los de las fibras sin cargar.

Tabla 4-11 Diámetros de las fibras antes y después de ser encapsulados los bacteriófagos en las matrices de PEG/PLA y PEG/PLA+PEG.

MATRIZ	Flujo (mL/h)	Ø_{SIN FAGO} (µm)	Ø_{CON FAGO} (µm)	ΔØ (µm)
PEG/PLA	2,5	4,0 ± 0,7	5,2 ± 0,7	(+) 1,2
	5	4,5 ± 0,6	4,7 ± 0,9	(+) 0,2
PEG/PLA+PEG	5	5,4 ± 0,7	5,7 ± 0,7	(+) 0,3

Como se puede observar en la Tabla 4-11, las tres matrices han experimentado un crecimiento en su diámetro medio en comparación a los diámetros medios obtenidos en las matrices sin cargar a las mismas condiciones operacionales. Sin embargo, este crecimiento solo es significativo para la matriz PEG/PLA a 2,5 mL/h si se tienen en cuenta las desviaciones estándar antes y después de la carga de fagos. En contraste a lo observado en el Apartado 4.2.2, se observa que, para un voltaje aplicado constante, la matriz PEG/PLA tiene un diámetro medio menor a 5 mL/h que a 2,5 mL/h. Este debería ser mayor ya que se aplica la misma fuerza de estiramiento en una masa mayor. No obstante, se aprecia que la diferencia entre los diámetros medios es menor que la desviación estándar de ambas matrices, por lo que no se considera una diferencia significativa. Finalmente, se puede decir que, en general, la incorporación de los fagos en las matrices no supone un cambio radical en la morfología o diámetros de las fibras coaxiales

4.3.2. Estudio de la estabilidad de las fibras por remoción del PEG

4.3.2.1. Pérdida de peso de las fibras

El análisis de la pérdida de peso por remoción del PEG para las matrices de las fibras con incorporación de fagos se realiza de igual manera que para las fibras no cargadas, explicado en el Apartado 4.2.3.1. La Tabla 4-12 muestra los resultados obtenidos de porcentaje de pérdida de PEG para cada matriz en las dos condiciones estudiadas.

Tabla 4-12 Porcentajes de PEG removido de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG cargadas con bacteriófagos.

MATRIZ	Flujo (mL/h)	%PEG_{REMOVIDO}
PEG/PLA	2,5	95,35
	5	98,03
PEG/PLA+PEG	5	97,07

Al igual que se ha realizado en el Apartado 4.2.3.1, se ha representado la relación del porcentaje de PEG removido según la composición de este en las matrices, tal y como se muestra en la Figura 4-15.

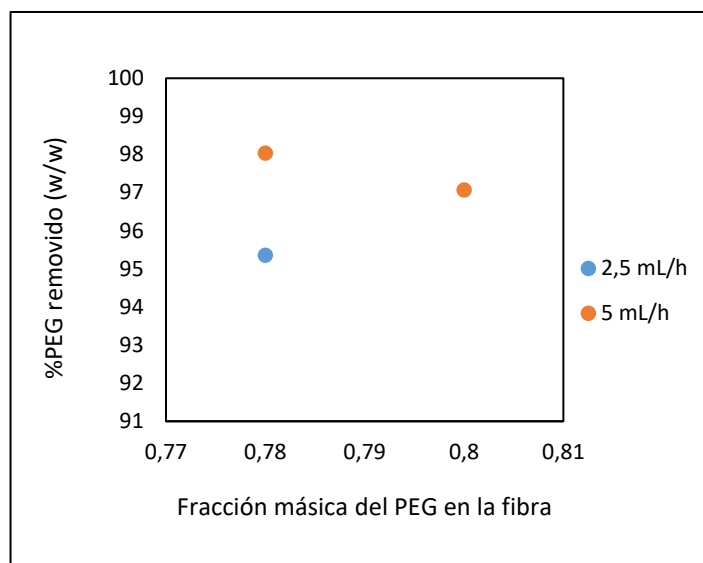


Figura 4-15 Relación entre del porcentaje de PEG removido y la fracción másica de PEG en ambas matrices.

Se observa que para ambas matrices coaxiales con bacteriófagos incorporados en el núcleo, el porcentaje de pérdida de PEG es bastante similar al obtenido en las matrices sin cargar. A diferencia de los resultados obtenidos en el Apartado 4.2.3.1, se observa que la matriz PEG/PLA+PEG ha perdido un 1% menos de PEG que la matriz PEG/PLA a 5 mL/h. Esto puede deberse al hecho que algunas fibras presentan grietas o aperturas longitudinales. En cambio, para las condiciones 2,5 mL/h, la cantidad de PEG removido sigue la misma tendencia observada en el Apartado 4.2.3.1.

No obstante, en general, los resultados demuestran que la incorporación de bacteriófagos en el PEG contenido en el núcleo de las fibras coaxiales no supone ser una limitación para su remoción por solubilización en agua.

4.3.2.2. Cambios en la morfología mediante SEM

Se ha procedido a examinar de nuevo las fibras mediante SEM para evaluar el efecto que podría tener la pérdida de PEG en las fibras con fagos incorporados. En la Figura 4-16, se muestran las micrografías de las fibras de las tres matrices.

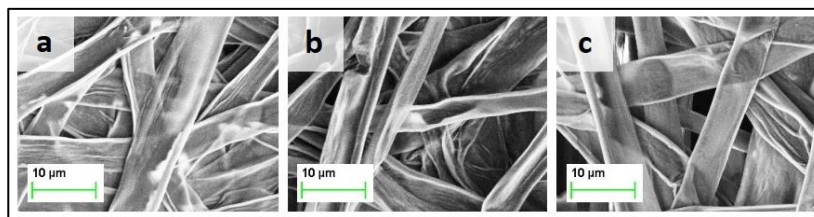


Figura 4-16 Morfología de las matrices PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h, cargadas con bacteriófagos después de la inmersión en agua.

Como se observa en la Figura 4-16, las tres matrices se caracterizan por el aplanamiento de las fibras causado por la remoción del PEG, polímero hidrofílico, al sumergirlas en agua. También, se puede apreciar como al vaciarse el núcleo de las fibras han quedado remanentes de PEG acumulados en los laterales. Esto nos permite diferenciar en gran medida entre las fibras que se han vaciado sin romper la cubierta (fibras coaxiales) y las que lo han hecho por formación de grietas o aperturas longitudinales en la cubierta (fibras no coaxiales) causadas por la presión hidrostática que actúa durante el proceso de inmersión de las fibras en agua. A pesar de que la matriz PEG/PLA a 5 mL/h presenta algunas grietas o fibras abiertas (Figura 4-16b), la mayoría de las fibras han perdido el PEG del núcleo sin romper la cubierta de PLA.

4.3.2.3. Variación de los diámetros

A partir de las micrografías obtenidas por SEM de las fibras cargadas, tanto antes como después de la inmersión de las matrices en agua para remover el componente de PEG, se ha procedido a realizar la medida de los diámetros de las fibras y su distribución. En la Figura 4-17 se muestran las micrografías de las distintas fibras, así como su distribución del diámetro de las fibras después de la inmersión de las fibras en agua y, por consiguiente, la remoción del PEG.

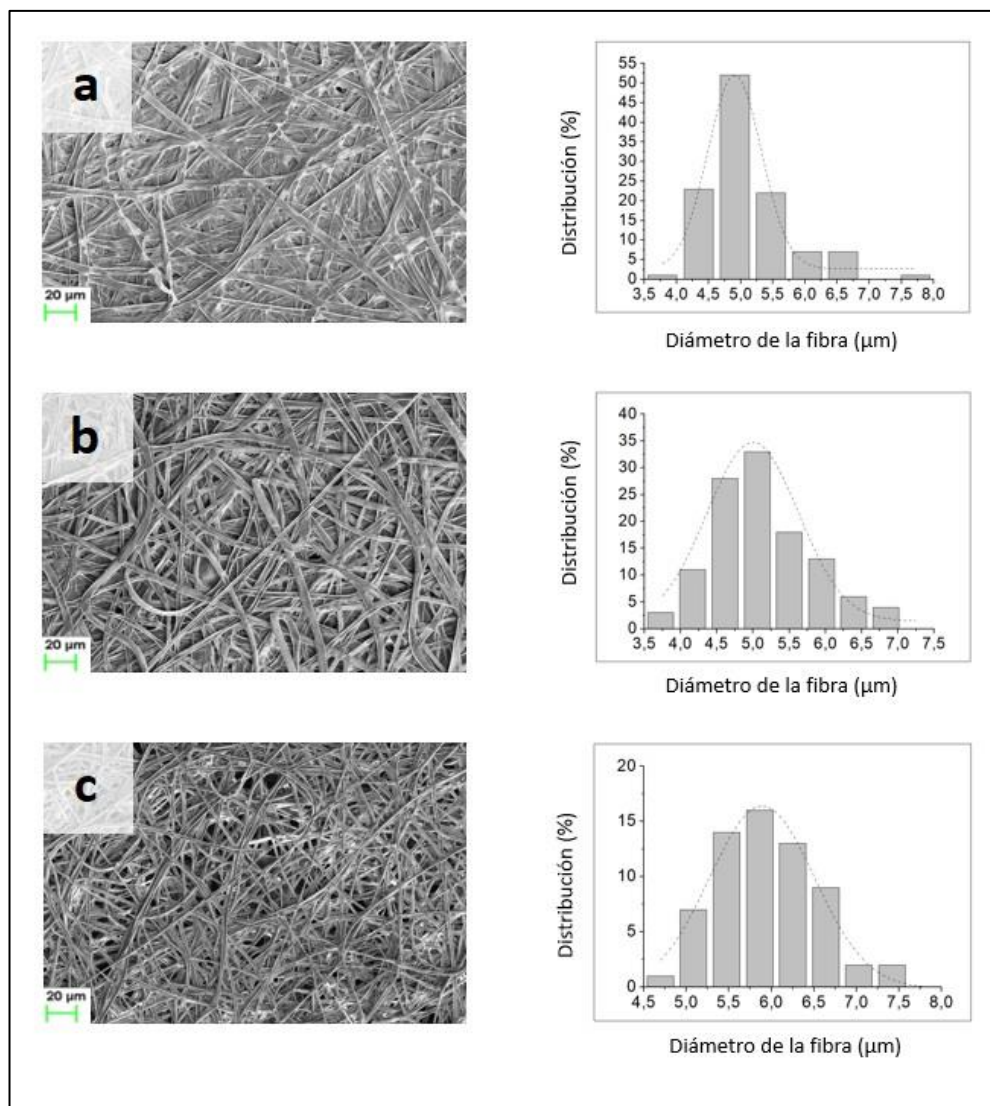


Figura 4-17 Morfología y distribución de diámetros después de la inmersión en agua de las fibras coaxiales PEG/PLA, (a) 2,5 mL/h y (b) 5 mL/h, y PEG/PLA+PEG, (c) 5 mL/h, con bacteriófagos incorporados en el núcleo de la fibras.

La Tabla 4-13 muestra los diámetros medios obtenidos para las fibras cargadas antes y después de la remoción del PEG por la inmersión de las matrices en agua.

Tabla 4-13 Diámetros de las fibras antes y después de la remoción de PEG por inmersión de las matrices cargadas en agua.

MATRIZ	Flujo (mL/h)	Ø_{INICIAL} (µm)	Ø_{TRAS REMOVER} (µm)	ΔØ (µm)
PEG/PLA	2,5	5,2 ± 0,7	5,1 ± 0,6	(-) 0,1
	5	4,7 ± 0,9	5,1 ± 0,7	(+) 0,4
PEG/PLA+PEG	5	5,7 ± 0,6	5,9 ± 0,6	(+) 0,2

En la Tabla 4-13, se puede observar como la mayoría de las matrices han experimentado un crecimiento en el diámetro de sus fibras debido al vaciamiento que han sufrido por la pérdida del PEG al sumergir las fibras en agua.

Una se ha analizado la morfología de las fibras y se ha determinado que se tratan de fibras coaxiales. Se procede a comparar la desviación estándar de las medidas de los diámetros, la cual indica la dispersión que tienen estas, para determinar que matrices han sido las más idóneas. En el caso de la matriz PEG/PLA+PEG es la que presenta una menor dispersión de los datos tanto antes como después de la inmersión o, en otras palabras, sus fibras son las que presentan mayor uniformidad. Por consiguiente, las condiciones de 5 mL/h, en este caso, han sido favorables. Con respecto a la matriz PEG/PLA cargada, la que presenta una homogeneidad más elevada es la de condiciones 2,5 mL/h y 25 kV. Además, a la hora de la elección de la matriz cargada PEG/PLA, se ha tenido en cuenta el hecho que algunas de las fibras de la matriz a 5 mL/h presentan roturas o aperturas longitudinales. Finalmente, estas serán las dos matrices que se utilizarán para el análisis mediante FT-IR y el estudio de inhibición del crecimiento bacteriano por la liberación de los fagos encapsulados en ellas.

4.4. Análisis de las fibras coaxiales mediante FT-IR

En los Apartados 4.2 y 4.3 se han seleccionado las matrices coaxiales, con y sin fagos incorporados respectivamente, más idóneas mediante el estudio morfológico de las fibras antes y después de la remoción del PEG.

En este apartado se ha procedido a caracterizar fisicoquímicamente mediante la técnica de espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) las fibras coaxiales de las cuatro matrices seleccionadas, tanto antes como después de la pérdida del polímero hidrofílico (PEG) por el contacto de las fibras con un medio hidrofílico (agua). A continuación, se recoge en la Tabla 4-14 las matrices seleccionadas para dicho estudio.

Tabla 4-14 Matrices, con y sin fagos, seleccionadas para el análisis mediante FT-IR.

Nomenclatura	Matriz	Distancia aguja-colector (cm)	Voltaje (kV)	Flujo (mL/h)
M1	PEG/PLA	22,5	25	5
M2	PEG/PLA cargada		25	2,5
M3	PEG/PLA+PEG		25	2,5
M4	PEG/PLA+PEG cargada		27	5

Los principales objetivos de este análisis es determinar el cambio cualitativo en la composición de las fibras al disminuir significativamente el porcentaje de PEG en ellas y observar si existen diferencias en la composición de las matrices al incorporar los fagos en el núcleo de estas. Para ello, primero se ha realizado el estudio fisicoquímico de los homopolímeros utilizados a lo largo de este TFG, el PLA amorfo y el PEG35000 comercial, para posteriormente comparar los espectros de las matrices con ellos.

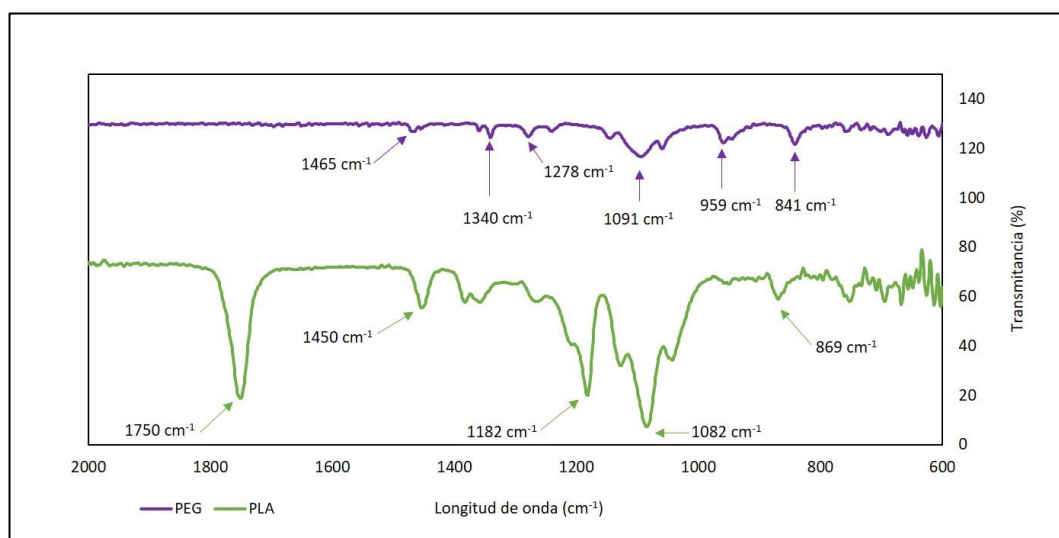


Figura 4-18 Espectro FTIR del PLA amorfo y el PEG35000 comercial.

En la Figura 4-18, se muestra las bandas características de ambos homopolímeros. Por un lado, el PLA se caracteriza por: una banda a 1750 cm^{-1} correspondiente al enlace C=O, una banda a 1450 cm^{-1} y una a 869 cm^{-1} correspondientes al enlace C-H, una a 1182 cm^{-1} correspondiente al enlace C-O-C, una a 1082 cm^{-1} correspondiente al enlace C-O-C simétrico [56]. Por otro lado, las principales bandas características del PEG son: las bandas a 1465 cm^{-1} , 1340 cm^{-1} , 959 cm^{-1} y 834 cm^{-1} correspondientes al enlace C-H y las bandas a 1278 cm^{-1} y a 1091 cm^{-1} correspondientes a los enlaces O-H y C-O-H, respectivamente [57].

A continuación, en la Figura 4-19 se muestra el espectro FTIR de las cuatro matrices con y sin fagos incorporados comparadas con el espectro FTIR del PEG y del PLA.

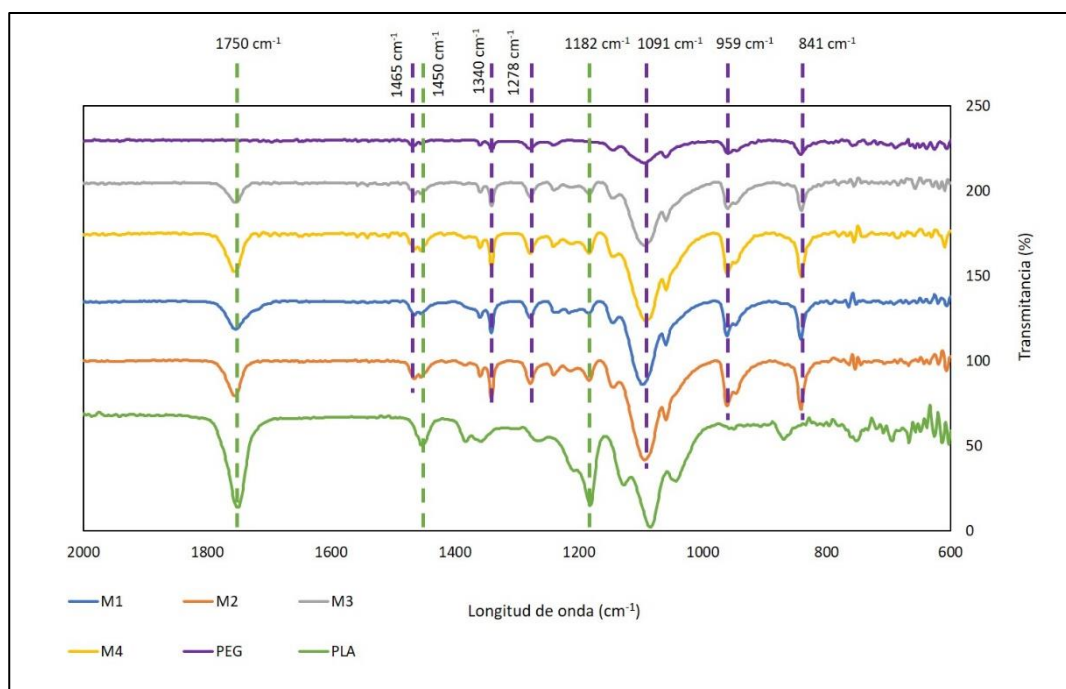


Figura 4-19 Espectros FTIR de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG con y sin fagos.

En la Figura 4-19, se puede observar de manera cualitativa como las composiciones de las cuatro matrices contienen los grupos característicos de los dos homopolímeros, PEG y PLA, que las constituyen. Así pues, se puede observar que el espectro de las matrices con fagos encapsulados y las matrices sin fagos presentan las mismas bandas características del PEG y el PLA. Por ende, la incorporación de bacteriófagos en el núcleo de las fibras coaxiales no ha modificado cualitativamente la composición de las matrices.

Consecutivamente, en la Figura 4-20 se muestra el espectro FTIR de las cuatro matrices después de sumergirlas en agua comparadas con el espectro FTIR de los homopolímeros que las componen.

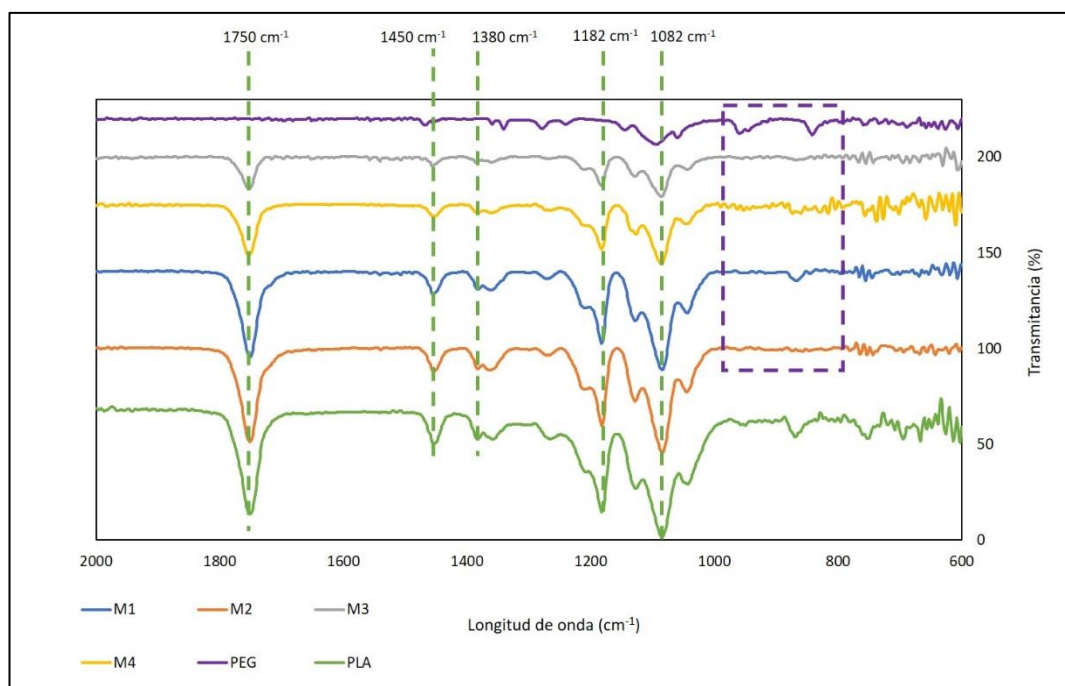


Figura 4-20 Espectros FTIR de las matrices PEG/PLA y PEG/PLA+PEG con y sin fagos después de la remoción del PEG.

Al contrario que en la Figura 4-19, en la Figura 4-20 se observa la composición cualitativa de las matrices, tanto sin como con fagos encapsulados, después de la remoción del PEG por inmersión de las matrices en agua. En esta se aprecia como todas las matrices han perdido las bandas del metileno (enlace C-H) del PEG a 1465, 1340, 959 y 841 cm^{-1} . Además, también han desaparecido las bandas del PEG a 1278 cm^{-1} y a 1091 cm^{-1} correspondientes a los enlaces O-H y C-O-H, que presentaban antes de sumergirlas en agua. Por el contrario, presentan las bandas características del PLA destacando las bandas del enlace C-O-C a 1182 y a 1082 cm^{-1} . Finalmente, atendiendo a los apartados 5.2.3.1 y 5.3.2.1, donde se definía unos altos porcentajes de PEG removido, mayores al 90%, y a los espectros FTIR de las composiciones cualitativas de las matrices antes y después de sumergirlas en agua, se puede confirmar que el PEG se ha solubilizado al ponerse en contacto con un medio hidrofílico.

4.5. Inhibición del crecimiento bacteriano por la liberación de bacteriófagos desde fibras coaxiales

El efecto antibacteriano de los bacteriófagos, encapsulados y liberados desde las matrices de fibras coaxiales, se ha determinado por la inhibición del crecimiento bacteriano en caldo de cultivo. En los Apartados 4.9 y 4.10, se detalla los métodos utilizados para la liberación de los fagos y el cultivo bacteriano, respectivamente.

La lectura del cultivo bacteriano se ha realizado durante 72 horas. No obstante, solo se ha podido analizar las primeras 8 horas debido a la evaporación que ha habido en algunos de los micropocillos de la multiplaca. Esto ha provocado una variación en la turbidez de los micropocillos y, por consiguiente, una lectura irreal de los datos. Además, a las 24 horas ha habido una contaminación en las muestras por lo que, finalmente, se ha decidido estudiar el comportamiento del proceso las primeras 8 horas.

A continuación, en la Figura 4- 21 y la Figura 4-22 se muestra, en dos horas diferentes de la liberación de los fagos, el crecimiento bacteriano que ha habido durante las primeras 8 horas, desde el inicio del cultivo bacteriano. Siendo M2 y M1 la matriz PEG/PLA, con y sin fagos, y M4 y M3 la matriz PEG/PLA+PEG, con y sin fagos.

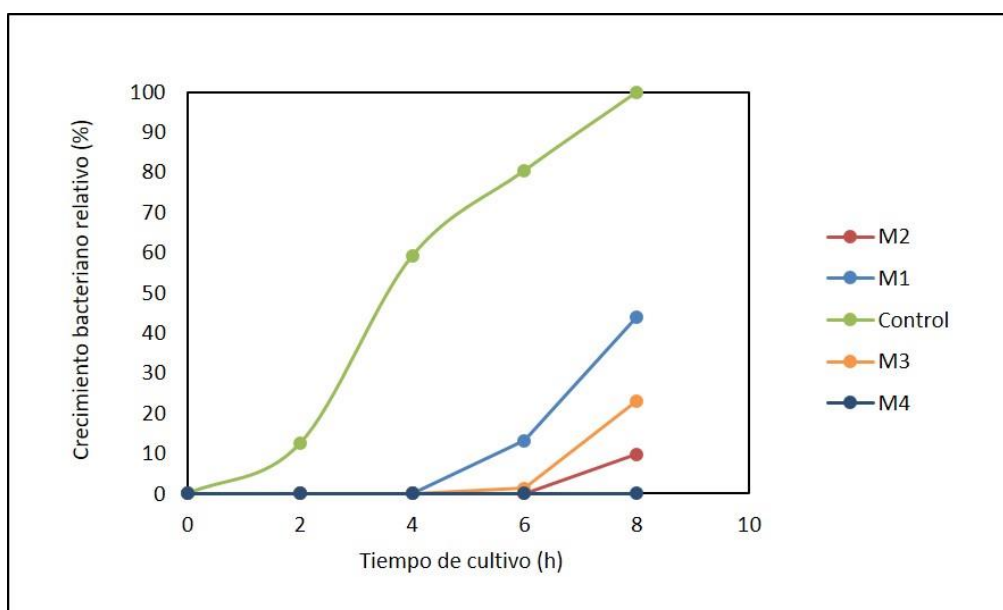


Figura 4-21 Crecimiento bacteriano a las 4 horas de la liberación de los bacteriófagos desde las fibras coaxiales.

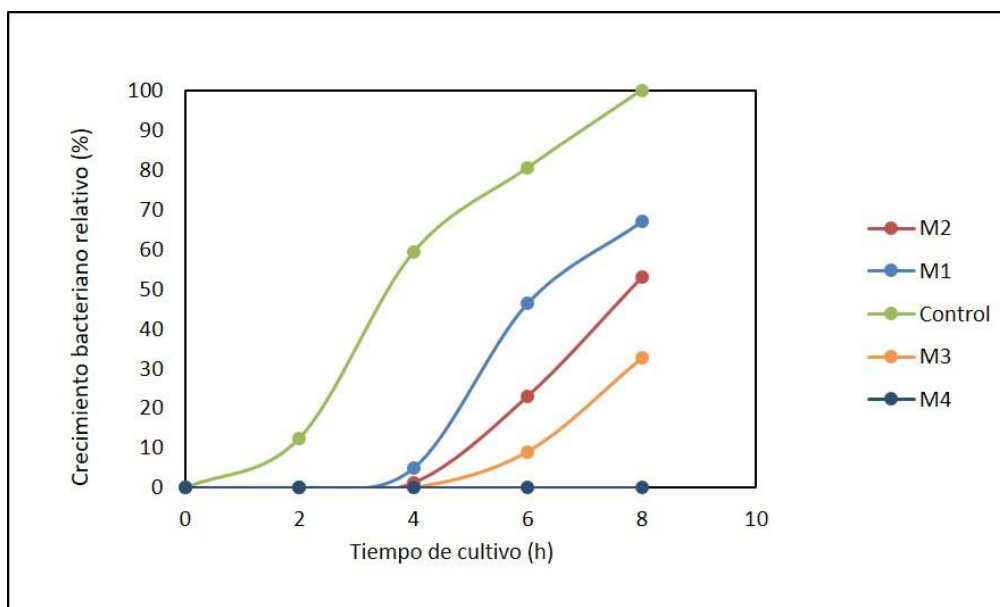


Figura 4-22 Crecimiento bacteriano a las 8 horas de la liberación de los bacteriófagos desde las fibras coaxiales.

El crecimiento bacteriano en un caldo de cultivo se divide en cuatro fases: fase de adaptación, fase exponencial, fase estacionaria y fase de declive. En este caso, solo se observa las dos primeras fases puesto que solo se ha podido analizar el crecimiento bacteriano experimentado las 8 primeras horas a causa de una contaminación durante la toma de lectura.

Durante la fase de adaptación, las bacterias se adaptan a las condiciones de crecimiento. Es decir, es el periodo en el que las bacterias están madurando y no tienen aún la posibilidad de dividirse. La curva de control, que se observa en las Figuras 4-21 y 4-22, es equivalente al crecimiento máximo que han experimentado las bacterias en las 8 horas de cultivo. Esta nos indica que la fase de adaptación ha tenido un periodo de 2 horas. En cambio, en las matrices coaxiales, la fase de adaptación se ha visto ralentizada hasta las 4 y 6 horas, tanto para una liberación de los fagos de 4 horas como de 8 horas. Esto puede deberse a la retención de disolvente, CHCl_3 , en las matrices.

La fase exponencial se caracteriza por la duplicación celular de las bacterias. En lo referente a esta segunda fase, la población bacteriana, tanto a las 4 como a las 8 horas de la liberación, experimenta un mayor crecimiento en la matriz PEG/PLA que en la matriz PEG/PLA con fagos incorporados. Este comportamiento también se observa entre las matrices PEG/PLA+PEG con y sin fagos. Por consiguiente, los fagos liberados, tanto a las 4 como a las 8 horas, están cumpliendo su función reguladora y han inhibido en gran medida el crecimiento bacteriano.

Entre las dos horas de liberación de los fagos estudiadas, se aprecia que el crecimiento bacteriano es mayor a las 8 horas. En el caso de la matriz PEG/PLA con fagos, este crecimiento posiblemente se deba a que la población bacteriana ha experimentado un crecimiento lo suficientemente elevado para superar a la población de fagos, los cuales no tienen la función de erradicar a las bacterias sino de controlarlas. Cabe recordar, que los fagos utilizados son lisogénicos, es decir, infectan a las bacterias e insertan su ADN en el cromosoma bacteriano para que este sea transmitido junto el propio ADN de la célula, pero a diferencia de los fagos líticos, estos no las matan.

En lo referente a la matriz cargada PEG/PLA+PEG, durante las primeras 8 horas de cultivo no ha mostrado crecimiento bacteriano en ninguna de las dos horas de liberación. Después de 24 horas sumergidas en agua, las fibras perdieron un 97% (Apartado 4.3.2.1) sin presentar grietas o aperturas longitudinales, lo que indica que el PEG es un polímero muy hidrofílico y que el núcleo de las fibras estaba recubierto uniformemente. Así pues, al poner la matriz en contacto con el medio fisiológico (PBS), probablemente, el PEG de la cubierta se ha solubilizado rápidamente y ha facilitado la liberación masiva de fagos lo que ha hecho que no se experimente crecimiento bacteriano durante las 8 horas del cultivo.

A pesar de que durante las 8 horas de cultivo se ha obtenido los resultados esperados, estos no son concluyentes. Para ello se debería prolongar la toma de lectura del crecimiento durante mínimo 72 horas para poder observar las cuatro fases que experimenta el crecimiento bacteriano en un caldo de cultivo. En él se debería observar que, durante los 3 días, las matrices coaxiales cargadas no experimentarían un crecimiento exponencial debido a la inhibición de los bacteriófagos. Además, se determinaría la actividad de los fagos en las diferentes horas de liberación.

Conclusiones

El objetivo general de este Trabajo de Final de Grado ha sido la obtención de las matrices constituidas por fibras coaxiales de material polimérico con un núcleo compuesto por PEG, polímero hidrofílico, y con una cubierta compuesta por PLA, polímero hidrofóbico, o una mezcla de PLA y PEG. Seguidamente se ha procedido a encapsular los bacteriófagos en el núcleo de la fibra, combinado con el polímero de sacrificio, para su posterior liberación con el objetivo de combatir enfermedades causadas por los *Staphylococcus Aureus*.

A continuación, se exponen las conclusiones extraídas tras la realización del proyecto:

1. Se ha establecido mediante la técnica convencional de *electrospinning*, los parámetros operacionales más idóneos para la obtención de fibras uniaxiales de PEG y PLA+PEG. Siendo para las fibras de PEG: un flujo de 5 mL/h, un voltaje de 25 kV y una distancia aguja-colector de 22,5 cm; y para las fibras de PLA+PEG, un flujo de 3 mL/h, un voltaje de 20 kV y una distancia aguja-colector de 22,5 cm.
2. Se ha establecido mediante la técnica de *electrospinning* coaxial los parámetros operacionales más idóneos para la obtención de fibras coaxiales a partir de disoluciones poliméricas de PEG, que constituye el núcleo de las fibras, PLA o una mezcla de ambos homopolímeros, que constituyen la cubierta de las fibras. Para la matriz PEG/PLA se ha utilizado un flujo de 5 mL/h y para la matriz PEG/PLA+PEG de 2,5 mL/h, manteniendo en ambos casos un voltaje de 25 kV y una distancia aguja-colector de 22,5 cm.
 - 2.1. Se ha observado el carácter liso y una forma tubular en la mayoría de las fibras con unos diámetros medios de $4,45 \pm 0,63 \mu\text{m}$ para la matriz PEG/PLA y $4,67 \pm 0,41 \mu\text{m}$ para la matriz PEG/PLA+PEG.
 - 2.2. Se ha observado que, después de la inmersión de las matrices en un medio hidrofílico, las fibras han disminuido su peso inicial debido a la pérdida de un elevado porcentaje de PEG, polímero hidrofílico. Por consiguiente, mediante las micrografías del SEM, se ha observado un cambio morfológico en las fibras coaxiales, las cuales han perdido su forma tubular y han adoptado una forma aplanada debido al vaciamiento del núcleo de la fibra coaxial. En la mayoría de casos ha aumentado el tamaño del diámetro de las fibras.
3. Se ha optimizado las condiciones para el encapsulamiento de bacteriófagos en fibras coaxiales, siendo estas las siguientes: un flujo de 2,5 mL/h y un voltaje de 25 kV para la matriz PEG/PLA, y un flujo de 5 mL/h y un voltaje de 26 kV para la matriz PEG/PLA+PEG. La distancia aguja-colector se ha mantenido constante a 22,5 cm.

- 3.1. La incorporación de bacteriófagos no ha supuesto un cambio drástico ni en la morfología de las fibras ni en los diámetros medios, los cuales han aumentado ligeramente.
 - 3.2. Se ha observado cambios similares a los experimentados por las fibras sin fagos después de la remoción del PEG por inmersión de las matrices en agua: disminución del peso inicial, forma aplanada y aumento de los diámetros medios.
4. Se ha obtenido una distribución homogénea del diámetro de las fibras en todas las matrices, con y sin fagos, tanto antes como después de la inmersión en agua, lo que ha indicado la homogeneidad de las matrices seleccionadas.
5. Se ha demostrado la influencia de los parámetros operacionales variados en la morfología de las fibras coaxiales en la técnica de electrospinning coaxial:
 - 5.1. Para un campo eléctrico constante, a mayor flujo de salida, mayor diámetro de las fibras.
 - 5.2. A mayor concentración de polímero en la disolución, mayor diámetro de las fibras.
6. Se ha apreciado la diferencia entre los diámetros medios de las fibras coaxiales respecto al de las fibras uniaxiales, siendo 4 veces superior el de las fibras coaxiales. Esto es debido a una mayor concentración de polímero en las disoluciones poliméricas y a la estructura núcleo-cubierta.
7. Se ha analizado cualitativamente la composición de las matrices por FTIR, con y sin fagos, y se ha observado la presencia de ambos homopolímeros. También, se ha demostrado la remoción del PEG por la pérdida de este en la composición de las matrices que han sido sumergidas en agua.
8. Se ha podido encapsular bacteriófagos, específicos a los *Staphylococcus Aureus*, en el núcleo de las fibras coaxiales y liberarlos en un medio fisiológico (PBS). La actividad de los fagos se ha observado en la inhibición del crecimiento bacteriano que han sufrido las matrices cargadas respecto a las no cargadas al realizar un cultivo bacteriano en ellas, para distintas horas de liberación de los fagos desde las matrices coaxiales. Además, debido a un aumento de la población bacteriana respecto a la de los fagos, se ha apreciado un aumento del crecimiento bacteriano a las 8 horas con respecto a las 4 horas. En el caso de la matriz PEG/PLA+PEG no se ha observado crecimiento bacteriano a lo largo de las primeras 8 horas lo que indicaría una liberación masiva por la elevada solubilidad del PEG.

5. Análisis del impacto ambiental

El objetivo de este apartado es identificar, describir y valorar los efectos que puede conllevar la realización de este proyecto para la salud y el medio ambiente.

Por un parte, se ha utilizado las fichas internacionales de seguridad química (*FISQ*) que proporcionan información esencial sobre salud y seguridad en relación con los productos químicos, a fin de promover un uso seguro. En ella se ofrece información sobre los riesgos intrínsecos de la sustancia química, junto con medidas contra incendios y de primeros auxilios, así como datos sobre las precauciones necesarias en caso de derrame, eliminación, almacenamiento, empaque, etiquetado y transporte. De este modo, se han conocido los riesgos para la salud y medioambiente que conlleva el uso incorrecto de los reactivos, mayormente disolventes, empleados durante la elaboración de proyecto.

Asimismo, se ha tenido en cuenta la normativa vigente en la Unión Europea (UE) relativa al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y mezclas químicas (*Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of Chemicals, REACH*). Más específicamente, el Reglamento (CE) Nº1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo que tiene como principal objetivo garantizar un alto nivel de protección de la salud humana y el medio ambiente. También, se ha empleado el Reglamento (CE) Nº1272/2008, el cual trata la clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas (*Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures, CLP*). En este se ofrece un conjunto de criterios armonizados sobre el peligro de las sustancias químicas con el fin de garantizar un nivel elevado de protección de la salud humana y del medio ambiente, identificando todas las propiedades fisicoquímicas, toxicológicas y ecotoxicológicas de sustancias y mezclas.

De este modo, para la realización de este apartado, se ha elaborado una búsqueda de información sobre los reactivos empleados a lo largo del proyecto con el fin de conocer los riesgos de salud y medioambientales que estos conllevan.

En lo referente al impacto ambiental causado por el PLA y el PEG, cabe recordar que se tratan de polímeros biodegradables, es decir, se degradan, de forma natural, por la acción de microorganismo tales como bacterias, hongos y algas. Por esta razón, no suponen un riesgo para el medio ambiente. Además, el PLA y los dos PEG utilizados (10000 kDa y 35000 kDa) han sido considerados sustancias no peligrosas para el medio ambiente de acuerdo con el Reglamento (CE) Nº1272/2008.

En lo referente al impacto ambiental causado por los disolventes, se ha recogido en la Tabla 5-1 la clase de peligro, los pictogramas y las referencias de cada sustancia química utilizada. Seguidamente, se ha detallado en la Tabla 5-2 el significado de los códigos del peligro conocidos como *Hazard Statements*.

Tabla 5-1 Clase de peligro, pictogramas y referencias de las sustancias químicas utilizadas en el TFG.



Sustancia química	Clase de peligro	Pictogramas y referencia
Acetona	H225	  GHS02 GHS07
	H310	
	H336	
	EUH066	
Cloroformo	H302 + H332	 GHS06  GHS08
	H315	
	H319	
	H336	
	H351	
	H361d	
	H373	

Tabla 5-2 Significado de los Hazard Statements referentes a las sustancias químicas utilizadas en el TFG.

Hazard Statements	Indicación de peligro
<i>EUH066</i>	La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel
<i>H225</i>	Líquido y vapores muy inflamables
<i>H302</i>	Nocivo en caso de ingestión
<i>H310</i>	Mortal en contacto con la piel
<i>H315</i>	Provoca irritación cutánea
<i>H319</i>	Provoca irritación ocular grave
<i>H332</i>	Nocivo en caso de inhalación
<i>H336</i>	Puede provocar somnolencia o vértigo
<i>H351</i>	Se sospecha que provoca cáncer
<i>H361d</i>	Se sospecha que daña al feto
<i>H373</i>	Puede perjudicar a determinados órganos por exposición prolongada o repetida

Finalmente, a lo largo de este proyecto los residuos generados se han depositado en contenedores específicos para su posterior tratamiento con el fin de contaminar lo menos posible el medio ambiente. En este caso, se requería de un contenedor para sustancias halogenadas, otro para sustancias no halogenadas y otro para residuos biológicos peligrosos. También, se ha dispuesto de un contenedor para residuos de plástico, de vidrio y de papel contaminado.

6. Análisis económico

En este apartado se ha realizado un análisis económico del coste total para la elaboración profesional de este proyecto, el cual se ha dividido en cuatro costes diferenciados.

6.1. Coste de disolventes y productos químicos

Se ha tenido en cuenta los disolventes y productos químicos necesarios para la elaboración de las fibras uniaxiales y coaxiales, el medio de liberación de los bacteriófagos y el caldo de cultivo bacteriano. Los precios de estos disolventes, así como de los productos químicos requeridos, se han obtenido de los catálogos de las empresas suministradoras: Sigma-Aldrich y Fisher Chemical. Finalmente, se ha aplicado el 21% referente al IVA de los disolventes y productos químicos. Dichos costes se recogen en la Tabla 6-1.

Tabla 6-1 Coste de disolventes y productos químicos del proyecto.

Coste de disolventes y productos químicos				
Disolventes (D)	Unidad	Precio €/unid.	Cantidad utilizada	Total €
Acetona	1 L	46,20	300 mL	13,66
Cloroformo	1 L	92,95	600 mL	55,77
PBS	1 L	12,20	100 mL	1,22
<i>PhagestaphTM</i>	20 mL	88,00	20 mL	88,00
Subtotal D				158,65
Productos químicos (PQ)				
PEG10000	1 kg	38,25	100 g	3,83
PEG35000	1 kg	55,00	524 g	28,82
PLA	1 kg	75,00	120 g	9,00
BHI	100 g	37,25	37 g	13,78
Subtotal PQ				55,43
Subtotal D y PQ				214,08
IVA (21% subtotal D y PQ)				44,96
TOTAL				259,04

El coste total de los disolventes y productos químicos es de 259,04€.

6.2. Coste de personal

Para los costes de personal se ha considerado que este proyecto se realiza de manera profesional y por ello se ha aplicado un coste equivalente al de un ingeniero junior. En la elaboración del proyecto se ha tenido en cuenta las horas dedicadas a cada parte del proyecto, tal y como se expresa en la Tabla 6-2.

Tabla 6-2 Coste de personal del proyecto.

Coste de personal			
Actividad	Cantidad (h)	Precio (€/h)	Total €
Estudio previo y documentación	96	15,00	1440,00
Experimentación	750	20,00	15000,00
Análisis de los resultados	250	25,00	6250,00
TOTAL			22690,00

El coste total de personal del proyecto es de 22690,00€.

6.3. Coste de los equipos y materiales

Para realizar el coste que ha supuesto el uso de los diferentes equipos, se ha tenido presente el precio de adquisición (P) y se ha planteado una cuota de valor (A) que representa el pago fraccionado y anual de los equipos. Además, se ha tenido presente la amortización (n) y el número de usuarios (u) de cada uno de los equipos y un interés anual (i) del 4%. También, se ha estimado una duración del proyecto (t) de 10 meses, de los cuales se han considerado los últimos 8 meses para el uso de los equipos de laboratorio. A continuación, se presentan las ecuaciones 4 y 5 utilizadas para el cálculo del coste de cada uno de los equipos:

$$\text{Coste por equipo} = A \cdot \frac{t}{u} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$A = P \cdot \frac{i \cdot (1 + i)^i}{(1 + i)^n - 1} \quad (\text{Ec. 5})$$

Además, se ha considerado el coste de los materiales utilizados en el laboratorio como el 20% del subtotal de los disolventes y productos químicos. Por último, se ha aplicado un porcentaje del 21% referente al IVA de los equipos y de los materiales. Seguidamente se recogen los resultados obtenidos en la Tabla 6-3:

Tabla 6-3 Coste de los equipos y materiales del proyecto.

Coste de los equipos y materiales					
Equipo	Precio (€)	Amortización (años)	Cuota A (€/años)	Usuarios	Total €
Electrospinning	3000,00	5	554,75	4	115,57
OM	10000,00	10	834,22	5	139,04
Cámara digital OM	5400,00	5	998,55	5	166,43
SEM	210000,00	20	7063,24	10	588,60
Equipo FTIR	24725,00	10	2062,60	8	214,85
Lector ELISA	3440,00	4	811,36	5	135,23
Subtotal equipos					1359,72
Subtotal materiales (20% subtotal D y PQ)					42,82
Subtotal equipos y materiales					1402,54
IVA (21% subtotal equipos y materiales)					294,53
TOTAL					1697,07

El coste total de los equipos y materiales del proyecto es de 1697,07€.

6.4. Otros costes asociados

En estos costes se ha tenido en cuenta el suministro de luz, agua y climatización, los cuales se han calculado como el 10% del coste de actividad, expuesto en la Tabla 6-4. Finalmente, se ha tenido en cuenta el coste operacional del laboratorio (*overhead*) considerado como el 21% del coste total del proyecto. Dichos costes adicionales se recogen en la Tabla 6-5.

Tabla 6-4 Coste de actividad del proyecto.

Coste de actividad	
Actividad	Total €
Coste de disolventes y PQ	259,04
Coste de personal	22690,00
Coste de equipos	1697,08
TOTAL	24646,12

El coste total de actividad es de 24646,12€.

Tabla 6-5 Coste total del proyecto.

Coste total del proyecto	
Actividad	Total €
Coste de actividad	24646,12
Suministros (10% PA)	2464,61
Subtotal TFG	27110,73
Coste operacional (21% subtotal TFG)	5693,25
TOTAL	32803,98

Finalmente, el coste total de este proyecto asciende a la cifra de 32803,98€, el cual se ha redondeado a la cifra de 32800,00€.

Bibliografía

- [1] W. González and H. Manhini, "Ciencia de los materiales," *Cienc. y Tecnol. No es fácil ser verde*, 2003.
- [2] R. Chandra and R. Rustgi, "Biodegradable Polymers," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 23, no. 97, pp. 1273–1335, 1998.
- [3] D. Zapata, R. Pujol, and F. Coda, "Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente," *Técnica Ind.*, vol. 297, pp. 76–80, 2012.
- [4] B. P. Bustamante, "La degradación de los plásticos," *Revista Universidad EAFIT*, vol. 30, no. 94, pp. 67–86, 2012.
- [5] A. Collet González, "Nuevas poliesteramidas biodegradables derivadas de ácido glicólico y aminoácidos con aplicación en biomedicina," p. 99, 2004.
- [6] L. S. Nair and C. T. Laurencin, "Biodegradable polymers as biomaterials," *Progress in Polymer Science (Oxford)*, vol. 32, no. 8–9, pp. 762–798, 2007.
- [7] S. Morales and A. Eduardo, "Modificación de las propiedades del ácido Poliláctico (PLA)," pp. 1–97, 2013.
- [8] L. Serna C., A. Rodríguez de S., and F. Albán A., "Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones," *Rev. Ing. y Compet.*, vol. 5, no. 1, pp. 16–26, 2011.
- [9] N. Valls Pepió, "Modificació de l'àcid polilàctic mitjançant compostos polifuncionals," *Proj. Final Carrera. Eng. Quim.*, no. Escola Técnica superior d'Enginyeria Industrial de Barcelona, p. 151, 2012.
- [10] T. Y. Cho and G. Strobl, "Temperature dependent variations in the lamellar structure of poly(l-lactide)," *Polymer (Guildf.)*, vol. 47, no. 4, pp. 1036–1043, 2006.
- [11] B. Patel and S. Chakraborty, "Biodegradable polymers: Emerging excipients for the pharmaceutical and medical device industries," *J. Excipients Food Chem.*, vol. 4, no. 4, pp. 126–157, 2013.
- [12] J. J. Marler, J. Upton, R. Langer, and J. P. Vacanti, "Transplantation of cells in matrices for tissue regeneration," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 33, no. 1–2, pp. 165–182, 1998.
- [13] M. Takenaga, Y. Yamaguchi, A. Kitagawa, Y. Ogawa, Y. Mizushima, and R. Igarashi, "A novel sustained-release formulation of insulin with dramatic reduction in initial rapid release," *J. Control. Release*, vol. 79, no. 1–3, pp. 81–91, 2002.
- [14] A. Lamprecht, H. Roderro Torres, U. Schäfer, and C.-M. Lehr, "Biodegradable microparticles as a two-drug controlled release formulation: a potential treatment of inflammatory bowel disease," *J. Control. Release*, vol. 69, no. 3, pp. 445–454, 2000.

- [15] P. Bailon and W. Berthold, "Polyethylene glycol-conjugated pharmaceutical proteins," *Pharmaceutical Science and Technology Today*, vol. 1, no. 8. pp. 352–356, 1998.
- [16] N. S. Vrandečić, M. Erceg, M. Jakić, and I. Klarić, "Kinetic analysis of thermal degradation of poly(ethylene glycol) and poly(ethylene oxide)s of different molecular weight," *Thermochim. Acta*, vol. 498, no. 1–2, pp. 71–80, 2010.
- [17] J. ChenCurrent address: Key Lab. of Ra, S. K. Spear, J. G. Huddleston, and R. D. Rogers, "Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media," *Green Chem.*, vol. 7, no. 2, p. 64, 2005.
- [18] K. Knop, R. Hoogenboom, D. Fischer, and U. S. Schubert, "Poly(ethylene glycol) in drug delivery: Pros and cons as well as potential alternatives," *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 49, no. 36. pp. 6288–6308, 2010.
- [19] S. Agarwal, J. H. Wendorff, and A. Greiner, "Use of electrospinning technique for biomedical applications," *Polymer*, vol. 49, no. 26. pp. 5603–5621, 2008.
- [20] J. C. Middleton and A. J. Tipton, "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices," *Biomaterials*, vol. 21, no. 23. pp. 2335–2346, 2000.
- [21] A. Frenot and I. S. Chronakis, "Polymer nanofibers assembled by electrospinning," *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, vol. 8, no. 1. pp. 64–75, 2003.
- [22] T. Hayashi, "Biodegradable polymers for biomedical uses," *Progress in Polymer Science*, vol. 19, no. 4. pp. 663–702, 1994.
- [23] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. Lemons, *Biomaterials Science: A Multidisciplinary Endeavor*. 2004.
- [24] F. Akter, "Principles of Tissue Engineering," in *Tissue Engineering Made Easy*, 2016, pp. 3–16.
- [25] J. Vacanti, "Tissue engineering and regenerative medicine: from first principles to state of the art," *Journal of Pediatric Surgery*, vol. 45, no. 2. pp. 291–294, 2010.
- [26] J. Lannutti, D. Reneker, T. Ma, D. Tomasko, and D. Farson, "Electrospinning for tissue engineering scaffolds," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 27, no. 3, pp. 504–509, 2007.
- [27] M. M. Hohman, M. Shin, G. Rutledge, and M. P. Brenner, "Electrospinning and electrically forced jets. II. Applications," *Phys. Fluids*, vol. 13, no. 8, pp. 2221–2236, 2001.
- [28] T. J. Sill and H. A. von Recum, "Electrospinning: Applications in drug delivery and tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 29, no. 13. pp. 1989–2006, 2008.
- [29] V. Maquet and R. Jerome, "Design of Macroporous Biodegradable Polymer Scaffolds for Cell Transplantation," *Mater. Sci. Forum*, vol. 250, pp. 15–42, 1997.
- [30] and a. G. M. R. C. Thomson, M. C. Wake, M. J. Yaszemski, "Biodegradable Polymer Scaffolds to Regenerate Organs," *Adv. Polym. Sci.*, vol. 122, pp. 247–277, 1995.

- [31] F. J. Davis, S. D. Mohan, and M. A. Ibraheem, "Electrospinning: Principles, Practice and Possibilities," in *Electrospinning: Principles, Practice and Possibilities*, no. 1, 2015, pp. 1–18.
- [32] N. Bhardwaj and S. C. Kundu, "Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique," *Biotechnology Advances*, vol. 28, no. 3, pp. 325–347, 2010.
- [33] Y. M. Shin, M. M. Hohman, M. P. Brenner, and G. C. Rutledge, "Experimental characterization of electrospinning: the electrically forced jet and instabilities," *Polymer (Guildf)*, vol. 42, no. 25, pp. 09955–09967, 2001.
- [34] Z. G. Wang, L. S. Wan, Z. M. Liu, X. J. Huang, and Z. K. Xu, "Enzyme immobilization on electrospun polymer nanofibers: An overview," *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, vol. 56, no. 4, pp. 189–195, 2009.
- [35] L. Marcela, D. Sánchez, L. Rodríguez, and M. López, "Electrospinning : La Era De Las Nanofibras," *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 14, no. 1, pp. 10–27, 2014.
- [36] P. Paul, "An introduction to electrospinning process," *Man-Made Text. India*, vol. 48, no. 10, pp. 367–371, 2005.
- [37] V. Beachley and X. Wen, "Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 29, no. 3, pp. 663–668, 2009.
- [38] C. J. Thompson, G. G. Chase, A. L. Yarin, and D. H. Reneker, "Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model," *Polymer (Guildf)*, vol. 48, no. 23, pp. 6913–6922, 2007.
- [39] C. Ribeiro, V. Sencadas, J. L. G. Ribelles, and S. Lanceros-Méndez, "Influence of processing conditions on polymorphism and nanofiber morphology of electroactive poly(vinylidene fluoride) electrospun membranes," *Soft Mater.*, vol. 8, no. 3, pp. 274–287, 2010.
- [40] M. Afshari, "Electrospun Nanofibers," in *Woodhead Publishing Series in Textiles Volume Number: 186*, W. Publishing, Ed. The textile Institute, 2016, pp. 9–143.
- [41] H. Fong, I. Chun, and D. H. Reneker, "Beaded nanofibers formed during electrospinning," in *Polymer*, 1999, vol. 40, no. 16, pp. 4585–4592.
- [42] J. Doshi and D. H. Reneker, "Electrospinning process and applications of electrospun fibers," *J. Electrostat.*, vol. 35, no. 2–3, pp. 151–160, 1995.
- [43] C. J. Angammana and S. H. Jayaram, "The effects of electric field on the multijet electrospinning process and fiber morphology," *IEEE Trans. Ind. Appl.*, vol. 47, no. 2, pp. 1028–1035, 2011.
- [44] Y. Yang, Z. Jia, J. Liu, Q. Li, L. Hou, L. Wang, and Z. Guan, "Effect of electric field distribution uniformity on electrospinning," *J. Appl. Phys.*, vol. 103, no. 10, 2008.
- [45] V. Jacobs, R. D. Anandjiwala, and M. Maaza, "The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol.

- 115, no. 5, pp. 3130–3136, 2010.
- [46] M. K. Leach, Z.-Q. Feng, S. J. Tuck, and J. M. Corey, “Electrospinning Fundamentals: Optimizing Solution and Apparatus Parameters,” *J. Vis. Exp.*, no. 47, 2011.
- [47] C. L. Casper, J. S. Stephens, N. G. Tassi, D. B. Chase, and J. F. Rabolt, “Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: Effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process,” *Macromolecules*, vol. 37, no. 2, pp. 573–578, 2004.
- [48] J. Pelipenko, J. Kristl, B. Janković, S. Baumgartner, and P. Kocbek, “The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers,” *Int. J. Pharm.*, vol. 456, no. 1, pp. 125–134, 2013.
- [49] S. Vrieze, T. Camp, A. Nelvig, B. Hagström, P. Westbroek, and K. Clerck, “The effect of temperature and humidity on electrospinning,” *J. Mater. Sci.*, vol. 44, no. 5, pp. 1357–1362, 2008.
- [50] A. K. Moghe and B. S. Gupta, “Co-axial electrospinning for nanofiber structures: Preparation and applications,” *Polym. Rev.*, vol. 48, no. 2, pp. 353–377, 2008.
- [51] A. L. Yarin, “Coaxial electrospinning and emulsion electrospinning of core-shell fibers,” *Polymers for Advanced Technologies*, vol. 22, no. 3, pp. 310–317, 2011.
- [52] M. F. Elahi and W. Lu, “Core-shell Fibers for Biomedical Applications-A Review,” *J. Bioeng. Biomed. Sci.*, vol. 3, no. 1, 2013.
- [53] A. K. Moghe and B. S. Gupta, “Nanofiber Structures: Co-Axial Electrospinning,” *Encycl. Biomed. Polym. Polym. Biomater.*, no. March 2013, pp. 5147–5161, 2015.
- [54] N. Rodrigo, L. J. Del Valle, and J. Puiggalí, “Incorporación de bacteriófagos en micro/nanofibras de polietilenglicol y ácido poliláctico mediante electrospinning,” pp. 25–29, 2015.
- [55] E. Llorens, L. J. Del Valle, R. Ferrán, A. Rodríguez-Galán, and J. Puiggalí, “Scaffolds with tuneable hydrophilicity from electrospun microfibers of polylactide and poly(ethylene glycol) mixtures: Morphology, drug release behavior, and biocompatibility,” *J. Polym. Res.*, vol. 21, no. 2, 2014.
- [56] C. Ribeiro, V. Sencadas, C. M. Costa, J. L. Gómez Ribelles, and S. Lanceros-Méndez, “Tailoring the morphology and crystallinity of poly(L-lactide acid) electrospun membranes,” *Sci. Technol. Adv. Mater.*, vol. 12, no. 1, 2011.
- [57] K. Shameli, M. Bin Ahmad, S. D. Jazayeri, S. Sedaghat, P. Shabanzadeh, H. Jahangirian, M. Mahdavi, and Y. Abdollahi, “Synthesis and characterization of polyethylene glycol mediated silver nanoparticles by the green method,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 13, no. 6, pp. 6639–6650, 2012.

Anexo A

Anexo A.1 – Acetona

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006
Versión 5.5 Fecha de revisión 13.01.2015
Fecha de impresión 01.05.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Acetona

Referencia : 522627
Marca : Aldrich
No. Índice : 606-001-00-8
REACH No. : 01-2119471330-49-XXXX
No. CAS : 67-64-1

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977
Fax : +34 91 6619642
E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008

Líquidos inflamables (Categoría 2), H225
Irritación ocular (Categoría 2), H319
Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única (Categoría 3), H336

Para el texto íntegro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

Clasificación de acuerdo con las Directivas de la UE 67/548/CEE ó 1999/45/CE

F Fácilmente inflamable R11
Xi Irritante R36
R66
R67

El texto completo de las frases R mencionadas en esta Sección, se indica en la Sección 16.

2.2 Elementos de la etiqueta

Etiquetado de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008

Pictograma



Palabra de advertencia Peligro

Indicación(es) de peligro

H225

Líquido y vapores muy inflamables.

Aldrich - 522627

Página 1 de 17

H319	Provoca irritación ocular grave.
H336	Puede provocar somnolencia o vértigo.
Declaración(es) de prudencia P210	Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar.
P261 P305 + P351 + P338	Evitar respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
Información suplementaria sobre riesgos (UE) EUH066	La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Formula	: C ₃ H ₆ O
Peso molecular	: 58,08 g/mol
No. CAS	: 67-64-1
No. CE	: 200-662-2
No. Índice	: 606-001-00-8
Número de registro	: 01-2119471330-49-XXXX

Ingredientes peligrosos de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1272/2008

Componente	Clasificación	Concentración
Acetone		
No. CAS 67-64-1 No. CE 200-662-2 No. Índice 606-001-00-8 Número de registro 01-2119471330-49-XXXX	Flam. Liq. 2; Eye Irrit. 2; STOT SE 3; H225, H319, H336, EUH066	<= 100 %

Ingrediente peligroso según la Directiva 1999/45/CE

Componente	Clasificación	Concentración
Acetone		
No. CAS 67-64-1 No. CE 200-662-2 No. Índice 606-001-00-8 Número de registro 01-2119471330-49-XXXX	F, Xi, R11 - R36 - R66 - R67	<= 100 %

Para el texto completo de las frases de Riesgo y Seguridad mencionadas en esta Sección, ver la Sección 16

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lávese a fondo con agua abundante durante 15 minutos por lo menos y consulte al médico.

Si es tragado

No provocar el vómito. Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11.

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

El agua pulverizada puede ser utilizada para enfriar los contenedores cerrados.

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Retirar todas las fuentes de ignición. Evacuar el personal a zonas seguras. Tener cuidado con los vapores que se acumulan formando así concentraciones explosivas. Los vapores pueden acumularse en las zonas inferiores. Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Contener y recoger el derrame con un aspirador aislado de la electricidad o cepillándolo, y meterlo en un envase para su eliminación de acuerdo con las reglamentaciones locales (ver sección 13).

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evitar la inhalación de vapor o neblina. Conservar alejado de toda llama o fuente de chispas - No fumar. Tomar medidas para impedir la acumulación de descargas electrostáticas. Ver precauciones en la sección 2.2.

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado. Los contenedores que se abren deben volverse a cerrar cuidadosamente y mantener en posición vertical para evitar pérdidas.

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

Componente	No. CAS	Valor	Parámetros de control	Base
Acetone	67-64-1	VLA-ED	500 ppm 1.210 mg/m3	Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos - Tabla 1: Límites Ambientales de exposición profesional
	Observaciones	Agente químico que tiene Valor Límite Biológico específico en este documento. Agente químico para el que la U.E. estableció en su día un valor límite indicativo. Todos estos agentes químicos figuran al menos en una de las directivas de valores límite indicativos publicadas hasta ahora (ver Anexo C. Bibliografía). Los estados miembros disponen de un tiempo fijado en dichas directivas para su trasposición a los valores límites de cada país miembro. Una vez adoptados, estos valores tienen la misma validez que el resto de los valores adoptados por el país.		
		TWA	500 ppm 1.210 mg/m3	Directiva 2000/39/CE de la Comisión por la que se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos
		Indicativo		

Límites biológicos de exposición profesional

Componente	No. CAS	Parámetros	Valor	Muestras biológicas	Base
Acetone	67-64-1	Acetona	50,0000 mg/l	Orina	Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España - Valores Límite Biológicos
	Observaciones	final de la jornada laboral			

Nivel sin efecto derivado (DNEL)

Área de aplicación	Vía de exposición	Efecto en la salud	Valor
Trabajadores	Contacto con la piel	A largo plazo - efectos sistémicos	186mg/kg peso corporal/día
Consumidores	Ingestión	A largo plazo - efectos sistémicos	62mg/kg peso corporal/día
Consumidores	Contacto con la piel	A largo plazo - efectos sistémicos	62mg/kg peso corporal/día
Trabajadores	Inhalación	Aguda - efectos sistémicos	2420 mg/m3
Trabajadores	Inhalación	A largo plazo - efectos sistémicos	1210 mg/m3
Consumidores	Inhalación	A largo plazo - efectos sistémicos	200 mg/m3

Concentración prevista sin efecto (PNEC)

Compartimento	Valor
Suelo	33,3 mg/kg
Agua de mar	1,06 mg/l
Agua dulce	10,6 mg/l
Sedimento marino	3,04 mg/kg

Sedimento de agua dulce	30,4 mg/kg
Planta de tratamiento de aguas residuales in situ	100 mg/l

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Caretas de protección y gafas de seguridad. Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Sumorción

Material: goma butílica

espesura mínima de capa: 0,3 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Butoject® (KCL 897 / Aldrich Z677647, Talla M)

Salpicaduras

Material: goma butílica

espesura mínima de capa: 0,3 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Butoject® (KCL 897 / Aldrich Z677647, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 87300, e-mail

sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación es meramente aconsejable y deberá ser evaluada por un responsable de seguridad e higiene industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

indumentaria impermeable, Vestimenta protectora antiestática retardante de la flama., El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Donde el asesoramiento de riesgo muestre que los respiradores purificadores de aire son apropiados, usar un respirador que cubra toda la cara con combinación multi-proposito (EEUU) o tipo AXBEK (EN 14387) respiradores de cartucho de respuesto para controles de ingeniería. Si el respirador es la única protección, usar un respirador suministrado que cubra toda la cara Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: líquido, claro Color: incoloro
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	Sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Punto/intervalo de fusión: -94,0 °C
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	56,0 °C a 1.013 hPa
g) Punto de inflamación	-17,0 °C - copa cerrada
h) Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Límites superior de explosividad: 13 %(V) Límites inferior de explosividad: 2 %(V)
k) Presión de vapor	533,3 hPa a 39,5 °C 245,3 hPa a 20,0 °C
l) Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m) Densidad relativa	0,79 g/cm ³
n) Solubilidad en agua	totalmente miscible
o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	log Pow: -0,24
p) Temperatura de auto-inflamación	465,0 °C
q) Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r) Viscosidad	Sin datos disponibles
s) Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t) Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad

Tensión superficial	23,2 mN/m a 20,0 °C
---------------------	---------------------

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Calor, llamas y chispas. Temperaturas extremas y luz directa del sol.

10.5 Materiales incompatibles

Bases, Oxidantes, Agentes reductores, La acetona reacciona violentamente con oxiclورو de fósforo.

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles

En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

DL50 Oral - Rata - 5.800 mg/kg

Observaciones: Conducta: alteraciones en el ciclo del sueño Conducta. Terror Conducta: Dolor de cabeza
La ingestión puede ocasionar irritación gastrointestinal, náusea, vómito y diarrea.

CL50 Inhalación - Rata - 8 h - 50.100 mg/m3

Observaciones: Somnolencia Vértigo Inconsciencia

DL50 Cutáneo - Conejillo de indias - 7.426 mg/kg

Corrosión o irritación cutáneas

Piel - Conejo

Resultado: Ligera irritación de la piel - 24 h

Lesiones o irritación ocular graves

Ojos - Conejo

Resultado: Irritación ocular - 24 h

Sensibilización respiratoria o cutánea

- Conejillo de indias

Resultado: No provoca sensibilización a la piel.

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

Este producto es o contiene un componente no clasificable con respecto a su carcinogenia en humanos, basado en su clasificación por IARC (International Agency for Research on Cancer; Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer), ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists; Conferencia de Higienistas Industriales Gubernamentales de los Estados Unidos), NTP (National Toxicology Program; Programa Nacional de Toxicología) de los Estados Unidos o EPA (Environmental Protection Agency; Agencia para la Protección del Medio Ambiente) de los Estados Unidos.

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Puede provocar somnolencia o vértigo.

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: AL3150000

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

Riñón - Irregularidades - Con base en la evidencia humana
Piel - Dermatitis - Con base en la evidencia humana

SECCIÓN 12: Información ecológica

12.1 Toxicidad

Toxicidad para los peces CL50 - Oncorhynchus mykiss (Trucha irisada) - 5.540 mg/l - 96 h

Toxicidad para las dafnias y otros invertebrados acuáticos CL50 - Daphnia magna (Pulga de mar grande) - 8.800 mg/l - 48 h

Toxicidad para las algas Observaciones: Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Biodegradabilidad Resultado: 91 % - Fácilmente biodegradable.
(OECD TG 301 B)

12.3 Potencial de bioacumulación

No debe bioacumularse.

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Quemar en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador, procediendo con gran cuidado en la ignición ya que este producto es extremadamente inflamable. Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte

14.1 Número ONU

ADR/RID: 1090 IMDG: 1090 IATA: 1090

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: ACETONA
IMDG: ACETONE
IATA: Acetone

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: 3 IMDG: 3 IATA: 3

14.4 Grupo de embalaje

ADR/RID: II IMDG: II IATA: II

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no

14.6 Precauciones particulares para los usuarios

Sin datos disponibles

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

15.2 Evaluación de la seguridad química

Se ha realizado una Valoración de la Seguridad Química para esta sustancia.

SECCIÓN 16: Otra información

Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.

EUH066	La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.
Eye Irrit.	Irritación ocular
Flam. Liq.	Líquidos inflamables
H225	Líquido y vapores muy inflamables.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H336	Puede provocar somnolencia o vértigo.
STOT SE	Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

El texto completo de las frases-R referidas en los puntos 2 y 3

F	Fácilmente inflamable
Xi	Irritante
R11	Fácilmente inflamable.
R36	Irrita los ojos.
R66	La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.
R67	La inhalación de vapores puede provocar somnolencia y vértigo.

Otros datos

Copyright 2015 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Anexo: Escenarios de exposición

Usos identificados:

Uso: Fabricación y uso en el lugar

SU 3: Usos industriales: Usos de sustancias como tales o en preparados en emplazamientos industriales
SU 3, SU9: Usos industriales: Usos de sustancias como tales o en preparados en emplazamientos industriales, Fabricación de productos químicos finos
PC19: Sustancias intermedias
PROC1: Uso en procesos cerrados, exposición improbable
PROC2: Utilización en procesos cerrados y continuos con exposición ocasional controlada
PROC3: Uso en procesos por lotes cerrados (síntesis o formulación)
PROC4: Utilización en procesos por lotes y de otro tipo (síntesis) en los que se puede producir la exposición
PROC8a: Transferencia de sustancias o preparados (carga/ descarga) de o hacia buques o grandes contenedores en instalaciones no especializadas
PROC8b: Transferencia de sustancias o preparados (carga/ descarga) de o hacia buques o grandes contenedores en instalaciones especializadas
PROC9: Transferencia de sustancias o preparados en pequeños contenedores (líneas de llenado especializadas, incluido el pesaje)
PROC15: Uso como reactivo de laboratorio
ERC1: Fabricación de sustancias

Uso: Formulación de preparados

SU 3: Usos industriales: Usos de sustancias como tales o en preparados en emplazamientos industriales
SU 10: Formulación [mezcla] de preparados y/ o reenvasado (sin incluir aleaciones)
PROC2: Utilización en procesos cerrados y continuos con exposición ocasional controlada
PROC3: Uso en procesos por lotes cerrados (síntesis o formulación)
PROC4: Utilización en procesos por lotes y de otro tipo (síntesis) en los que se puede producir la exposición
PROC5: Mezclado en procesos por lotes para la formulación de preparados y artículos (fases múltiples y/ o contacto significativo)
PROC8b: Transferencia de sustancias o preparados (carga/ descarga) de o hacia buques o grandes contenedores en instalaciones especializadas
PROC9: Transferencia de sustancias o preparados en pequeños contenedores (líneas de llenado especializadas, incluido el pesaje)
PROC15: Uso como reactivo de laboratorio
ERC2: Formulación de preparados

Uso: Se usa como un reactivo de laboratorio

SU 22: Usos profesionales: Ámbito público (administración, educación, espectáculos, servicios, artesanía)
SU 3, SU 22, SU24: Usos industriales: Usos de sustancias como tales o en preparados en emplazamientos industriales, Usos profesionales: Ámbito público (administración, educación, espectáculos, servicios, artesanía), Investigación y desarrollo científicos
PC21: Productos químicos de laboratorio
PROC10: Aplicación mediante rodillo o brocha
PROC15: Uso como reactivo de laboratorio
ERC4, ERC8a: Uso industrial de auxiliares tecnológicos en procesos y productos, que no forman parte de artículos, Amplio uso dispersivo interior de auxiliares tecnológicos en sistemas abiertos

Uso: Uso industrial de auxiliares tecnológicos en procesos y productos, que no forman parte de artículos

SU 3: Usos industriales: Usos de sustancias como tales o en preparados en emplazamientos industriales
SU 3, SU9: Usos industriales: Usos de sustancias como tales o en preparados en emplazamientos industriales, Fabricación de productos químicos finos
PC20: Productos como reguladores del pH, agentes floculantes, precipitantes y neutralizantes
PC21: Productos químicos de laboratorio
PROC3: Uso en procesos por lotes cerrados (síntesis o formulación)
PROC4: Utilización en procesos por lotes y de otro tipo (síntesis) en los que se puede producir la

exposición
PROC5: Mezclado en procesos por lotes para la formulación de preparados y artículos (fases múltiples y/o contacto significativo)
PROC6: Operaciones de calandrado
PROC7: Pulverización industrial
PROC8b: Transferencia de sustancias o preparados (carga/ descarga) de o hacia buques o grandes contenedores en instalaciones especializadas
PROC9: Transferencia de sustancias o preparados en pequeños contenedores (líneas de llenado especializadas, incluido el pesaje)
PROC10: Aplicación mediante rodillo o brocha
PROC13: Tratamiento de artículos mediante inmersión y vertido
PROC15: Uso como reactivo de laboratorio
ERC4, ERC6b, ERC1: Uso industrial de auxiliares tecnológicos en procesos y productos, que no forman parte de artículos, Uso industrial de auxiliares tecnológicos reactivos, Fabricación de sustancias

1. Título breve del escenario de exposición: Fabricación y uso en el lugar

Grupos de usuarios principales	: SU 3
Sectores de uso final	: SU 3, SU9
Categoría de productos químicos	: PC19
Categorías de proceso	: PROC1, PROC2, PROC3, PROC4, PROC8a, PROC8b, PROC9, PROC15
Categorías de emisión al medio ambiente	: ERC1:

2. Escenarios de exposición

2.1 Escenario de contribución que controla la exposición ambiental para: ERC1

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo	: Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).
-----------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------

2.2 Escenario de contribución que controla la exposición de los trabajadores para: PROC1, PROC2, PROC3, PROC4, PROC8a, PROC8b, PROC9, PROC15, PC19

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo	: Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).
Forma física (en el momento del uso)	: Líquido altamente volátil

Frecuencia y duración del uso

Duración de la aplicación	: > 4 h
Frecuencia de uso	: 220 días / año

Otras condiciones operacionales que afectan a la exposición de los trabajadores

Al exterior / Al Interior	: Al Interior
---------------------------	---------------

Medidas y condiciones técnicas

Suministrar ventilación adecuada., Se requiere una buena práctica de trabajo.

Medidas organizativas para prevenir/limitar emisiones, dispersión y exposición

Asegúrese de que los operarios estén capacitados para minimizar las exposiciones.

Condiciones y medidas relacionadas con la protección personal, la higiene y la evaluación de la salud

Utilice protección adecuada para los ojos y guantes., Equipo de protección individual, ver sección 8.

3. Estimación de la exposición y referencia a su fuente

Medio Ambiente

Se realizó una valoración de la seguridad química según Artículo 14(3) y Anexo I, Párrafo 3 (valoración del peligro para el medio ambiente) y 4 (valoración PBT y MPMB) de REACH. Como no se identificaron peligros no son necesarias una estimación de la exposición ni una caracterización del riesgo (REACH,

Anexo I, Párrafo 5.0).

Trabajadores

Escenario contributivo	Método de Evaluación de la exposición	Condiciones específicas	Valor	Nivel de exposición	RCR*
PROC1	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,03 mg/kg peso corporal/día	0
PROC1	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	0,02 mg/m ³	0
PROC2	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	0,02 mg/m ³	0
PROC2	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,03 mg/kg peso corporal/día	0
PROC3	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m ³	0,07
PROC3	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,69 mg/kg peso corporal/día	0,004
PROC4	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	6,86 mg/kg peso corporal/día	0,037
PROC4	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	169,17 mg/m ³	0,14
PROC8a	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	13,71 mg/kg peso corporal/día	0,074
PROC8a	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	422,92 mg/m ³	0,35
PROC8b	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	13,71 mg/kg peso corporal/día	0,074
PROC8b	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	253,75 mg/m ³	0,21
PROC9	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	338,33 mg/m ³	0,28
PROC9	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	6,86 mg/kg peso corporal/día	0,037
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m ³	0,07
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,34 mg/kg peso corporal/día	0,002

*Cociente de caracterización del riesgo

4. Orientación al Usuario Intermedio para evaluar si trabaja dentro de los límites fijados por el Escenario de Exposición

Consulte los documentos siguientes: Please refer to the following documents: ECHA Guidance on information requirements and chemical safety assessment Part D: Exposure Scenario Building, Part E: Risk Characterisation and Part G: Extending the SDS; VCI/Cefic REACH Practical Guides on Exposure Assessment and Communications in the Supply Chain; CEFIC Guidance Specific Environmental Release Categories (SPERCs).

1. Título breve del escenario de exposición: Formulación de preparados

Grupos de usuarios principales : SU 3
 Sectores de uso final : SU 10

Aldrich - 522627

Página 12 de 17

Categorías de proceso : **PROC2, PROC3, PROC4, PROC5, PROC8b, PROC9, PROC15**
 Categorías de emisión al medio ambiente : **ERC2:**

2. Escenarios de exposición

2.1 Escenario de contribución que controla la exposición ambiental para: ERC2

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo : Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).

2.2 Escenario de contribución que controla la exposición de los trabajadores para: PROC2, PROC3, PROC4, PROC5, PROC8b, PROC9, PROC15

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo : Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).

Forma física (en el momento del uso) : Líquido altamente volátil

Frecuencia y duración del uso

Duración de la aplicación : > 4 h
 Frecuencia de uso : 220 días / año

Otras condiciones operacionales que afectan a la exposición de los trabajadores

Al exterior / Al Interior : Al Interior

Medidas y condiciones técnicas

Suministrar ventilación adecuada., Se requiere una buena práctica de trabajo.

Medidas organizativas para prevenir/limitar emisiones, dispersión y exposición

Asegúrese de que los operarios estén capacitados para minimizar las exposiciones.

Condiciones y medidas relacionadas con la protección personal, la higiene y la evaluación de la salud

Utilice protección adecuada para los ojos y guantes., Equipo de protección individual, ver sección 8.

3. Estimación de la exposición y referencia a su fuente

Medio Ambiente

Se realizó una valoración de la seguridad química según Artículo 14(3) y Anexo I, Párrafo 3 (valoración del peligro para el medio ambiente) y 4 (valoración PBT y MPMB) de REACH. Como no se identificaron peligros no son necesarias una estimación de la exposición ni una caracterización del riesgo (REACH, Anexo I, Párrafo 5.0).

Trabajadores

Escenario contributivo	Método de Evaluación de la exposición	Condiciones específicas	Valor	Nivel de exposición	RCR*
PROC2	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,03 mg/kg peso corporal/día	0
PROC2	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	0,02 mg/m³	0
PROC3	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,69 mg/kg peso corporal/día	0,004
PROC3	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m³	0,07
PROC4	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	169,17 mg/m³	0,14
PROC4	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	6,86 mg/kg peso	0,037

Aldrich - 522627

Página 13 de 17

PROC5	ECETOC TRA	Extractor Local Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	corporal/día 422,92 mg/m ³	0,35
PROC5	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	13,71 mg/kg peso corporal/día	0,074
PROC8b	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	253,75 mg/m ³	0,21
PROC8b	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	13,71 mg/kg peso corporal/día	0,074
PROC9	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	6,86 mg/kg peso corporal/día	0,037
PROC9	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	338,33 mg/m ³	0,28
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m ³	0,07
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,34 mg/kg peso corporal/día	0,002

*Cociente de caracterización del riesgo

4. Orientación al Usuario Intermedio para evaluar si trabaja dentro de los límites fijados por el Escenario de Exposición

Consulte los documentos siguientes: Please refer to the following documents: ECHA Guidance on information requirements and chemical safety assessment Part D: Exposure Scenario Building, Part E: Risk Characterisation and Part G: Extending the SDS; VCI/Cefic REACH Practical Guides on Exposure Assessment and Communications in the Supply Chain; CEFIC Guidance Specific Environmental Release Categories (SPERCs).

1. Título breve del escenario de exposición: Se usa como un reactivo de laboratorio

Grupos de usuarios principales : SU 22
Sectores de uso final : SU 3, SU 22, SU24
Categoría de productos químicos : PC21
Categorías de proceso : PROC10, PROC15
Categorías de emisión al medio ambiente : ERC4, ERC8a:

2. Escenarios de exposición

2.1 Escenario de contribución que controla la exposición ambiental para: ERC4, ERC8a

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo : Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).

2.2 Escenario de contribución que controla la exposición de los trabajadores para: PROC10, PROC15, PC21

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo : Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).
Forma física (en el momento del uso) : Líquido altamente volátil

Frecuencia y duración del uso

Duración de la aplicación : > 4 h
Frecuencia de uso : 220 días / año

Otras condiciones operacionales que afectan a la exposición de los trabajadores

Al exterior / Al Interior : Al Interior

Medidas y condiciones técnicas

Suministrar ventilación adecuada., Se requiere una buena práctica de trabajo.

Medidas organizativas para prevenir/limitar emisiones, dispersión y exposición
Asegúrese de que los operarios estén capacitados para minimizar las exposiciones.

Condiciones y medidas relacionadas con la protección personal, la higiene y la evaluación de la salud

Utilice protección adecuada para los ojos y guantes., Equipo de protección individual, ver sección 8.

3. Estimación de la exposición y referencia a su fuente

Medio Ambiente

Se realizó una valoración de la seguridad química según Artículo 14(3) y Anexo I, Párrafo 3 (valoración del peligro para el medio ambiente) y 4 (valoración PBT y MPMB) de REACH. Como no se identificaron peligros no son necesarias una estimación de la exposición ni una caracterización del riesgo (REACH, Anexo I, Párrafo 5.0).

Trabajadores

Escenario contributivo	Método de Evaluación de la exposición	Condiciones específicas	Valor	Nivel de exposición	RCR*
PROC10	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	27,43 mg/kg peso corporal/día	0,147
PROC10	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	422,92 mg/m³	0,35
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m³	0,07
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,34 mg/kg peso corporal/día	0,002

*Cociente de caracterización del riesgo

4. Orientación al Usuario Intermedio para evaluar si trabaja dentro de los límites fijados por el Escenario de Exposición

Consulte los documentos siguientes: Please refer to the following documents: ECHA Guidance on information requirements and chemical safety assessment Part D: Exposure Scenario Building, Part E: Risk Characterisation and Part G: Extending the SDS; VCI/Cefic REACH Practical Guides on Exposure Assessment and Communications in the Supply Chain; CEFIC Guidance Specific Environmental Release Categories (SPERCs).

1. Título breve del escenario de exposición: Uso industrial de auxiliares tecnológicos en procesos y productos, que no forman parte de artículos

Grupos de usuarios principales	: SU 3
Sectores de uso final	: SU 3, SU9
Categoría de productos químicos	: PC20, PC21
Categorías de proceso	: PROC3, PROC4, PROC5, PROC6, PROC7, PROC8b, PROC9, PROC10, PROC13, PROC15
Categorías de emisión al medio ambiente	: ERC4, ERC6b, ERC1:

2. Escenarios de exposición

2.1 Escenario de contribución que controla la exposición ambiental para: ERC4, ERC6b, ERC1

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo : Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).

2.2 Escenario de contribución que controla la exposición de los trabajadores para: PROC3, PROC4, PROC5, PROC6, PROC7, PROC8b, PROC9, PROC10, PROC13, PROC15, PC20, PC21

Características del producto

Concentración de la sustancia en la Mezcla/Artículo : Cubre un porcentaje de 100% de sustancia en el producto (a menos que se indique lo contrario).
Forma física (en el momento del uso) : Líquido altamente volátil

Frecuencia y duración del uso

Duración de la aplicación : > 4 h
Frecuencia de uso : 220 días / año

Otras condiciones operacionales que afectan a la exposición de los trabajadores

Al exterior / Al Interior : Al Interior

Medidas y condiciones técnicas

Suministrar ventilación adecuada., Se requiere una buena práctica de trabajo.

Medidas organizativas para prevenir/limitar emisiones, dispersión y exposición

Asegúrese de que los operarios estén capacitados para minimizar las exposiciones.

Condiciones y medidas relacionadas con la protección personal, la higiene y la evaluación de la salud

Utilice protección adecuada para los ojos y guantes., Equipo de protección individual, ver sección 8.

3. Estimación de la exposición y referencia a su fuente

Medio Ambiente

Se realizó una valoración de la seguridad química según Artículo 14(3) y Anexo I, Párrafo 3 (valoración del peligro para el medio ambiente) y 4 (valoración PBT y MPMB) de REACH. Como no se identificaron peligros no son necesarias una estimación de la exposición ni una caracterización del riesgo (REACH, Anexo I, Párrafo 5.0).

Trabajadores

Escenario contributivo	Método de Evaluación de la exposición	Condiciones específicas	Valor	Nivel de exposición	RCR*
PROC3	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m ³	0,07
PROC3	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,69 mg/kg peso corporal/día	0,004
PROC4	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	169,17 mg/m ³	0,14
PROC4	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	6,86 mg/kg peso corporal/día	0,037
PROC5	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	13,71 mg/kg peso corporal/día	0,074
PROC5	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	422,92 mg/m ³	0,35
PROC6	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	27,43 mg/kg peso corporal/día	0,147
PROC6	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	422,92 mg/m ³	0,35
PROC7	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	42,86 mg/kg peso corporal/día	0,23
PROC7	ECETOC TRA	Ventilación sin	Inhalación	845,83 mg/m ³	0,699

Aldrich - 522627

Página 16 de 17

		Extractor Local			
PROC8b	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	253,75 mg/m ³	0,21
PROC8b	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	13,71 mg/kg peso corporal/día	0,074
PROC9	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	6,86 mg/kg peso corporal/día	0,037
PROC9	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	338,33 mg/m ³	0,28
PROC10	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	422,92 mg/m ³	0,35
PROC10	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	27,43 mg/kg peso corporal/día	0,147
PROC13	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	422,92 mg/m ³	0,35
PROC13	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	13,71 mg/kg peso corporal/día	0,074
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m ³	0,07
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,34 mg/kg peso corporal/día	0,002
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Inhalación	84,58 mg/m ³	0,07
PROC15	ECETOC TRA	Ventilación sin Extractor Local	Cutáneo	0,34 mg/kg peso corporal/día	0,002

*Cociente de caracterización del riesgo

4. Orientación al Usuario Intermedio para evaluar si trabaja dentro de los límites fijados por el Escenario de Exposición

Consulte los documentos siguientes: Please refer to the following documents: ECHA Guidance on information requirements and chemical safety assessment Part D: Exposure Scenario Building, Part E: Risk Characterisation and Part G: Extending the SDS; VCI/Cefic REACH Practical Guides on Exposure Assessment and Communications in the Supply Chain; CEFIC Guidance Specific Environmental Release Categories (SPERCs).

Anexo A.2 – Cloroformo



FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Fecha de preparación 20-oct-2009

Fecha de revisión 09-mar-2018

Número de Revisión 8

SECCIÓN 1: IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O LA MEZCLA Y DE LA SOCIEDAD O LA EMPRESA

1.1 Identificador del producto

Nombre del producto **Cloroformo**
Cat No. : C/4960/25, C/4960/27, C/4960/17, C/4960/15, C/4960/08, C/4960/PB08, C/4960/PB15, C/4960/PB17, C/4960/21RSS, C/4960/24RSS, C/4960/25RSS, C/4960/34RSS, C/4960/27RSS, C/4960/15PC
Sinónimos Methane trichloride; Methenyl trichloride; Formyl trichloride
Nº. CAS 67-66-3
Nº. CE. 200-663-8
Fórmula molecular C H Cl₃
Número de registro REACH 01-2119486657-20

1.2. Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Uso recomendado Productos químicos de laboratorio.
Sector de uso SU3 - Usos industriales: Usos de sustancias como tales o en preparados en emplazamientos industriales
Categoría del producto PC21 - Productos químicos de laboratorio
Categorías de procesos PROC15 - Uso como reactivo de laboratorio
Categoría de emisión al medio ambiente ERC6a: Uso industrial que da lugar a la fabricación de otra sustancia (uso de sustancias intermedias)
Usos desaconsejados Todos los demás usos

1.3. Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Empresa Fisher Scientific UK
 Bishop Meadow Road, Loughborough,
 Leicestershire LE11 5RG, United Kingdom
Dirección de correo electrónico begel.sdsdesk@thermofisher.com

1.4. Teléfono de emergencia

Tel: +44 (0)1509 231166
 Chemtrec US: (800) 424-9300
 Chemtrec EU: 001 (202) 483-7616

SECCIÓN 2: IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

2.1. Clasificación de la sustancia o de la mezcla

CLP clasificación - Reglamento (CE) n° 1272/2008

Peligros físicos

A la vista de los datos disponibles, no se cumplen los criterios de clasificación

Peligros para la salud

Toxicidad aguda oral

Categoría 4 (H302)

FSUC4960

Página 1 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

Toxicidad aguda por inhalación - Vapores	Categoría 3 (H331)
Corrosión o irritación cutáneas	Categoría 2 (H315)
Lesiones o irritación ocular graves	Categoría 2 (H319)
Carcinogenicidad	Categoría 2 (H351)
Toxicidad para la reproducción	Categoría 2 (H361d)
Toxicidad específica del órgano blanco - (única exposición)	Categoría 3 (H336)
Toxicidad específica del órgano blanco - (exposición repetida)	Categoría 1 (H372)

Peligros para el medio ambiente

A la vista de los datos disponibles, no se cumplen los criterios de clasificación

2.2. Elementos de la etiqueta



Palabras de advertencia

Peligro

Indicaciones de peligro

H302 - Nocivo en caso de ingestión
H331 - Tóxico en caso de inhalación
H315 - Provoca irritación cutánea
H319 - Provoca irritación ocular grave
H336 - Puede provocar somnolencia o vértigo
H351 - Se sospecha que provoca cáncer
H361d - Se sospecha que dañar el feto
H372 - Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas

Consejos de prudencia

P260 - No respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol
P304 + P340 - EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar
P311 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico
P302 + P352 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes
P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado
P280 - Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección

Complementaria etiqueta de la UE

Solo para usar en instalaciones industriales

2.3. Otros peligros

Cardiac and respiratory depression
Overexposure may cause decreased heart rate, decreased blood pressure, heart block, and cardiac failure

SECCIÓN 3: COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

FSUC4960

Página 2 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

3.1. Sustancias

Componente	Nº. CAS	Nº. CE.	Porcentaje en peso	CLP clasificación - Reglamento (CE) n° 1272/2008
Triclorometano	67-66-3	200-663-8	>99	Acute Tox. 4 (H302) Acute Tox. 3 (H331) Skin Irrit. 2 (H315) Eye Irrit. 2 (H319) STOT SE 3 (H336) Carc. 2 (H351) Repr. 2 (H361d) STOT RE 1 (H372)
1-Penteno	109-67-1	EEC No. 203-694-5	0.01	Flam. Liq. 1 (H224) Asp. Tox. 1 (H304) Aquatic Chronic 3 (H412)

Número de registro REACH	01-2119486657-20
--------------------------	------------------

Nota Se utiliza amileno como estabilizante, pero hay constancia de que puede no evitar la generación de fosgeno. El cloroformo estabilizado con amileno debe ensayarse para determinar su contenido en fosgeno.

Texto completo de las Indicaciones de peligro: ver la sección 16

SECCIÓN 4: PRIMEROS AUXILIOS

4.1. Descripción de los primeros auxilios

Consejo general	Inhalation may cause anesthesia. Mostrar esta ficha de datos de seguridad al médico de servicio. Se necesita atención médica inmediata.
Contacto con los ojos	Enjuagar inmediatamente con abundante agua, también bajo los párpados, durante al menos 15 minutos. Consultar a un médico.
Contacto con la piel	Lavar inmediatamente con abundante agua durante al menos 15 minutos. Consultar a un médico si se producen síntomas.
Ingestión	No provocar el vómito. Llamar inmediatamente a un médico o a un centro de información toxicológica.
Inhalación	Sacar al aire libre. No utilizar el método boca a boca si la víctima ha ingerido o inhalado la sustancia; administrar la respiración artificial con ayuda de una mascarilla de bolsillo dotada de una válvula unidireccional u otro dispositivo médico para reanimación respiratoria apropiado. Se necesita atención médica inmediata. Si no respira, realizar técnicas de respiración artificial.
Equipo de protección para el personal de primeros auxilios	Utilícese equipo de protección individual.

4.2. Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Dificultades respiratorias. Pérdida del conocimiento. Puede causar arritmia cardíaca. Puede causar paro cardíaco. Son síntomas de sobreexposición mareos, cefalea, cansancio, náuseas, pérdida del conocimiento, apnea: Causa depresión del sistema nervioso central

4.3. Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Notas para el médico	Tratar los síntomas. Signs of overdose include stupor and respiratory depression. Los
-----------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------

FSUC4960

Página 3 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

síntomas pueden ser retardados.

SECCIÓN 5: MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

5.1. Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Esta sustancia no es inflamable; utilizar el agente más adecuado para extinguir el incendio circundante.

Medios de extinción que no deben utilizarse por razones de seguridad

No hay información disponible.

5.2. Peligros específicos derivados de la sustancia o de la mezcla

La sustancia no es combustible y no arde en sí misma pero puede descomponerse por calentamiento generando humo corrosivo o tóxico.

Productos de combustión peligrosos

Monóxido de carbono (CO), Dióxido de carbono (CO₂), Gas cloruro de hidrógeno, Fosgeno.

5.3. Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Como en cualquier incendio, llevar un aparato de respiración autónomo de presión a demanda MSHA/NIOSH (aprobado o equivalente) y todo el equipo de protección necesario.

SECCIÓN 6: MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

6.1. Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evacuar al personal a zonas seguras. Asegurar una ventilación adecuada. Evitar el contacto con la piel, ojos y ropa.

6.2. Precauciones relativas al medio ambiente

No debe liberarse en el medio ambiente. Para más información ecológica, ver el apartado 12. No arrojar a las aguas superficiales ni al sistema de alcantarillado.

6.3. Métodos y material de contención y de limpieza

Absorber con material absorbente inerte. Mantener en contenedores cerrados aptos para su eliminación.

6.4. Referencia a otras secciones

Consultar las medidas de protección en las listas de las secciones 8 y 13.

SECCIÓN 7: MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

7.1. Precauciones para una manipulación segura

Llevar equipo de protección individual. Usar sólo bajo un protector contra humos químicos. No respirar vapores o niebla de pulverización. Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. No ingerir. Mantener alejado de llamas desnudas, superficies calientes y fuentes de ignición.

Medidas higiénicas

Manipular respetando las buenas prácticas de higiene industrial y seguridad.

FSUC4960

Página 4 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

7.2. Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Mantener los contenedores perfectamente cerrados en un lugar fresco, seco y bien ventilado. Mantener alejado de la luz directa del sol. Guarde bajo una atmósfera inerte. Proteger de la humedad.

7.3. Usos específicos finales

Uso en laboratorios

SECCIÓN 8: CONTROLES DE EXPOSICIÓN/PROTECCIÓN INDIVIDUAL

8.1 Parámetros de control

Límites de exposición

Lista fuente (s) **EU** - "Directiva 2006/15/CE de la Comisión de 7 de febrero de 2006 por la que se establece una segunda lista de valores límite de exposición profesional indicativos en aplicación de la Directiva 98/24/CE del Consejo y por la que se modifican las Directivas 91/322/CEE y 2000/39/CE sobre la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo." **ES** Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales de España. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. Límites de Exposición Profesional Para Agentes Químicos en España. Establecidos bajo Ley 31/1995, Prevención de Riesgos Laborales y Real Decreto 39/1997, Reglamento de los Servicios de Prevención. La Implementación de esta legislación en el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) es bajo Real Decreto 374/2001 de Mayo 1, 2001. Publicado inicialmente en 1995. actualizada en el 2011.

Componente	Unión Europea	Reino Unido	Francia	Bélgica	España
Triclorometano	TWA: 2 ppm 8 hr TWA: 10 mg/m³ 8 hr Possibility of significant uptake through the skin	TWA: 2 ppm TWA: 9.9 mg/m³ STEL: 6 ppm STEL: 29.7 mg/m³	TWA / VME: 2 ppm (8 heures). restrictive limit TWA / VME: 10 mg/m³ (8 heures). restrictive limit STEL / VLCT: 50 ppm. STEL / VLCT: 250 mg/m³. Peau	TWA: 2 ppm 8 uren TWA: 10 mg/m³ 8 uren Huid	TWA / VLA-ED: 2 ppm (8 horas) TWA / VLA-ED: 10 mg/m³ (8 horas) Piel

Componente	Italia	Alemania	Portugal	Países Bajos	Finlandia
Triclorometano	TWA: 2 ppm 8 ore. Media Ponderata nel Tempo TWA: 10 mg/m³ 8 ore. Media Ponderata nel Tempo Pelle	TWA: 4 ppm TWA: 20 mg/m³	TWA: 2 ppm 8 horas TWA: 10 mg/m³ 8 horas Pele	STEL: 25 mg/m³ 15 minuten TWA: 5 mg/m³ 8 uren	TWA: 2 ppm 8 tunteina TWA: 10 mg/m³ 8 tunteina STEL: 4 ppm 15 minuutteina STEL: 20 mg/m³ 15 minuutteina Iho

Componente	Austria	Dinamarca	Suiza	Polonia	Noruega
Triclorometano	Haut MAK-TMW: 2 ppm 8 Stunden MAK-TMW: 10 mg/m³ 8 Stunden	TWA: 2 ppm 8 timer TWA: 10 mg/m³ 8 timer Hud	Haut/Peau STEL: 1 ppm 15 Minuten STEL: 5 mg/m³ 15 Minuten TWA: 0.5 ppm 8 Stunden TWA: 2.5 mg/m³ 8 Stunden	TWA: 8 mg/m³ 8 godzinach	TWA: 2 ppm 8 timer TWA: 10 mg/m³ 8 timer STEL: 2 ppm 15 minutter. STEL: 10 mg/m³ 15 minutter. Hud
1-Penteno					TWA: 40 ppm 8 timer TWA: 275 mg/m³ 8 timer

Componente	Bulgaria	Croacia	Irlanda	Chipre	República Checa
Triclorometano	TWA: 2 ppm TWA: 10.0 mg/m³ Skin notation	kože TWA-GVI: 2 ppm 8 satima. TWA-GVI: 10 mg/m³ 8 satima.	TWA: 2 ppm 8 hr. TWA: 9.8 mg/m³ 8 hr. STEL: 6 ppm 15 min STEL: 29.4 mg/m³ 15 min Skin	Skin-potential for cutaneous absorption TWA: 2 ppm TWA: 10 mg/m³	TWA: 10 mg/m³ 8 hodinách. Potential for cutaneous absorption Ceiling: 20 mg/m³

FSUC4960

Página 5 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

Componente	Estonia	Gibraltar	Grecia	Hungría	Islandia
Triclorometano	Nahk TWA: 2 ppm 8 tundides. TWA: 10 mg/m ³ 8 tundides.	Skin notation TWA: 2 ppm 8 hr TWA: 10 mg/m ³ 8 hr	TWA: 10 ppm TWA: 50 mg/m ³	STEL: 10 mg/m ³ 15 percekben. CK TWA: 10 mg/m ³ 8 órában. AK	TWA: 2 ppm 8 klukkustundum. TWA: 10 mg/m ³ 8 klukkustundum. Skin notation Ceiling: 4 ppm Ceiling: 20 mg/m ³
Componente	Letonia	Lituania	Luxemburgo	Malta	Rumanía
Triclorometano	skin - potential for cutaneous exposure TWA: 2 ppm TWA: 10 mg/m ³		Possibility of significant uptake through the skin TWA: 2 ppm 8 Stunden TWA: 10 mg/m ³ 8 Stunden	possibility of significant uptake through the skin TWA: 2 ppm TWA: 10 mg/m ³	Skin notation TWA: 2 ppm 8 ore TWA: 10 mg/m ³ 8 ore
Componente	Rusia	República Eslovaca	Eslovenia	Suecia	Turquía
Triclorometano	TWA: 5 mg/m ³ 2019 Skin notation STEL: 10 mg/m ³ 2019	Potential for cutaneous absorption TWA: 2 ppm TWA: 10 mg/m ³	TWA: 2 ppm 8 urah TWA: 10 mg/m ³ 8 urah Koža	Indicative STELV: 5 ppm 15 minuter Indicative STELV: 25 mg/m ³ 15 minuter LLV: 2 ppm 8 timmar. LLV: 10 mg/m ³ 8 timmar. Hud	Deri TWA: 2 ppm 8 saat TWA: 10 mg/m ³ 8 saat

Valores límite biológicos

Este producto, tal como se suministra, no contiene ningún material peligroso con límites biológicos establecidos por los organismos reguladores regionales específicos

Métodos de seguimiento

EN 14042:2003 Título de identificación: Atmósferas en los lugares de trabajo. Directrices para la aplicación y uso de procedimientos para evaluar la exposición a agentes químicos y biológicos.

Nivel sin efecto derivado (DNEL) Ver la tabla de valores

Ruta de exposición	Efecto agudo (local)	Efecto agudo (sistémica)	Los efectos crónicos (local)	Los efectos crónicos (sistémica)
Oral Cutánea Inhalación		333 mg/m ³	2.5 mg/m ³	0.94 mg/kg bw/day 2.5 mg/m ³

Concentración prevista sin efecto (PNEC) Ver valores por debajo de.

Agua dulce	0.146 mg/l
Sedimentos de agua dulce	0.45 mg/kg
Agua marina	0.015 mg/l
Sedimentos de agua marina	0.09 mg/kg
El agua intermitente	0.133 mg/l
Microorganismos de tratamiento de aguas residuales	0.048 mg/l
Del suelo (agricultura)	0.56 mg/kg

8.2 Controles de la exposición

Medidas técnicas

Usar sólo bajo un protector contra humos químicos. Asegurar una ventilación adecuada, especialmente en áreas confinadas.

FSUC4960

Página 6 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

Asegurarse de que haya estaciones de lavado de ojos y duchas de seguridad cerca de la ubicación de la estación de trabajo. Siempre que sea posible, deberán adoptarse medidas técnicas de control tales como el aislamiento o confinamiento del proceso, la introducción de cambios en el proceso o los equipos para reducir al mínimo la liberación o el contacto, y el uso de sistemas de ventilación adecuadamente diseñados, dirigidas a controlar los materiales peligrosos en su fuente

Equipos de protección personal

Protección de los ojos Antiparras (Norma de la UE - EN 166)

Protección de las manos Guantes protectores

Material de los guantes	Tiempo de penetración	Espesor de los guantes	Norma de la UE	Guante de los comentarios
Vitón (R)	> 480 minutos	-	Nivel 6 EN 374	Según las pruebas realizadas de acuerdo con EN374-3 Determinación de la resistencia a la permeación por productos químicos
Neopreno	< 25 minutos	0.45 mm		
Goma de butilo	< 15 minutos	0.35 mm		

Protección de la piel y el cuerpo Ropa de manga larga

Inspeccione los guantes antes de su uso

Por favor, observe las instrucciones en cuanto a la permeabilidad y el tiempo de adelanto que son provistos por el proveedor de los guantes. (Consulte al fabricante / proveedor para obtener información).

Asegurarse de que los guantes son adecuados para la tarea

química compatibilidad, destreza, condiciones de funcionamiento

También tener en cuenta las condiciones locales específicas bajo las cuales el producto es utilizado, tal como el

Quítese los guantes con cuidado para evitar contaminación de la piel.

Protección respiratoria

Cuando los trabajadores se enfrentan a concentraciones superiores al límite de exposición, deben utilizar respiradores certificados apropiados.

Para proteger a quien lo lleva, el equipo de protección respiratoria debe ajustarse correctamente y estar sometido a un uso y un mantenimiento adecuados

A gran escala / uso de emergencia

Utilice un NIOSH / MSHA o la norma europea EN 136 respirador aprobado si los límites de exposición son excedidos o irritación u otros síntomas son experimentados

Tipo de filtro recomendado: bajo punto de ebullición disolvente orgánico Tipo AX Marrón conforme a EN371

Pequeña escala / uso en laboratorio

Utilice un NIOSH / MSHA o la norma europea EN 149:2001 respirador aprobado si los límites de exposición son excedidos o irritación u otros síntomas son experimentados

Recomendado media máscara: - Válvula de filtrado: EN405; o; Media máscara: EN140; con filtro, ES141

Al EPR se utiliza una prueba de ajuste de la máscara debe llevarse a cabo

Controles de exposición medioambiental

Prevenir la penetración del producto en desagües.

SECCIÓN 9: PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

9.1. Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

Aspecto	Incoloro	
Estado físico	Líquido	
Olor	aromático dulce	
Umbral olfativo	No hay datos disponibles	
pH	No hay información disponible	
Punto/intervalo de fusión	-63 °C / -81.4 °F	
Punto de reblandecimiento	No hay datos disponibles	
Punto/intervalo de ebullición	61 - 61 °C / 141.8 - 141.8 °F	
Punto de Inflamación	No hay información disponible	Método - No hay información disponible

FSUC4960

Página 7 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

Índice de Evaporación	No hay datos disponibles	
Inflamabilidad (sólido, gas)	No es aplicable	Líquido
Límites de explosión	No hay datos disponibles	
Presión de vapor	213 mbar @ 20 °C	
Densidad de vapor	No hay datos disponibles	(Aire = 1.0)
Densidad relativa / Densidad	1.480	
Densidad aparente	No es aplicable	Líquido
Solubilidad en el agua	8 g/L (20°C)	
Solubilidad en otros disolventes	No hay información disponible	
Coefficiente de reparto (n-octanol/agua)		
Componente	log Pow	
Triclorometano	2	
1-Penteno	2.66	
Temperatura de autoignición	No hay datos disponibles	
Temperatura de descomposición	No hay datos disponibles	
Viscosidad	0.56 mPa s at 20 °C	
Propiedades explosivas	No hay información disponible	
Propiedades comburentes	No hay información disponible	

9.2. Otros datos

Fórmula molecular	C H Cl ₃
Peso molecular	119.38
Contenido (%) COV (compuestos orgánicos volátiles)	100

SECCIÓN 10: ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

10.1. Reactividad

Sensibilidad a la luz Sensible a la humedad

10.2. Estabilidad química

Estable en condiciones normales, Inestable con la rebaja de concentración de inhibidor.

10.3. Posibilidad de reacciones peligrosas

Polimerización peligrosa	No se produce ninguna polimerización peligrosa.
Reacciones peligrosas	No hay información disponible.

10.4. Condiciones que deben evitarse

Productos incompatibles. Calor, llamas y chispas. Exceso de calor. Exposición a la luz. Proteger de la humedad.

10.5. Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes. Metales alcalinos. Aluminio. Acetona.

10.6. Productos de descomposición peligrosos

Monóxido de carbono (CO). Dióxido de carbono (CO₂). Gas cloruro de hidrógeno. Fosgeno.

SECCIÓN 11: INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

11.1. Información sobre los efectos toxicológicos

Información del producto

FSUC4960

Página 8 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

(a) toxicidad aguda;

Oral

Categoría 4

Cutánea

A la vista de los datos disponibles, no se cumplen los criterios de clasificación

Inhalación

Categoría 3

Componente	DL50 Oral	DL50 cutánea	LC50 Inhalación
Triclorometano	LD50 = 695 mg/kg (Rat) LD50 = 450 mg/kg (Rat)	LD50 > 20 g/kg (Rabbit)	47,702 mg/L (Rat) 4 h
1-Penteno	>2000 mg/kg (Rat)	>2000 mg/kg (Rabbit)	LC50 = 175000 mg/m ³ (Rat) 4 h

(b) corrosión o irritación cutáneas; Categoría 2

(c) lesiones o irritación ocular graves;

Categoría 2

(d) sensibilización respiratoria o cutánea;

Respiratorio

A la vista de los datos disponibles, no se cumplen los criterios de clasificación

Piel

A la vista de los datos disponibles, no se cumplen los criterios de clasificación

(e) mutagenicidad en células germinales;

A la vista de los datos disponibles, no se cumplen los criterios de clasificación

(f) carcinogenicidad;

Categoría 2

La tabla siguiente indica si cada agencia ha incluido alguno de los componentes en su lista de carcinógenos

Componente	UE	UK	Alemania	IARC
Triclorometano				Group 2B

(g) toxicidad para la reproducción; Efectos sobre la reproducción

Categoría 2

Los experimentos han demostrado toxicidad para la reproducción en animales de laboratorio.

Efectos sobre el desarrollo
Teratogenicidad

Se han producido efectos adversos para el desarrollo en animales de experimentación. Estudiar resultado. negativo.

(h) toxicidad específica en determinados órganos (STOT) – exposición única;

Categoría 3

Resultados / Órganos diana

Sistema nervioso central (SNC).

(i) toxicidad específica en determinados órganos (STOT) – exposición repetida;

Categoría 1

Estudiar resultado

LOAEL = 15 mg/kg bw/day

Órganos diana

NOAEC = 25 mg/m³
Hígado, Riñón, Sistema nervioso central (SNC).

(j) peligro de aspiración;

A la vista de los datos disponibles, no se cumplen los criterios de clasificación

Otros efectos adversos

Se han comunicado efectos tumorigénicos en animales de experimentación.

FSUC4960

Página 9 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

Síntomas / efectos, agudos y retardados

Son síntomas de sobreexposición mareos, cefalea, cansancio, náuseas, pérdida del conocimiento, apnea: Causa depresión del sistema nervioso central

SECCIÓN 12: INFORMACIÓN ECOLÓGICA

12.1. Toxicidad

Efectos de ecotoxicidad

No tirar los residuos por el desagüe. El producto contiene las sustancias siguientes que son peligrosas para el medio ambiente. Contiene una sustancia que es: Nocivo para los organismos acuáticos.

Componente	Peces de agua dulce	pulga de agua	Algas de agua dulce	Microtox
Triclorometano	LC50: = 300 mg/L, 96h static (Poecilia reticulata) LC50: = 18 mg/L, 96h flow-through (Lepomis macrochirus) LC50: = 18 mg/L, 96h flow-through (Oncorhynchus mykiss) LC50: = 71 mg/L, 96h flow-through (Pimephales promelas)	EC50 = 28.9 mg/L/48h	EC50 = 560 mg/L/48h	Photobacterium phosphoreum: EC50 = 520 mg/L/5 min Photobacterium phosphoreum: EC50 = 670 mg/L/15 min Photobacterium phosphoreum: EC50 = 670 mg/L/30min

12.2. Persistencia y degradabilidad

Persistencia

Product is biodegradable

La degradación en la planta de tratamiento de aguas residuales

La persistencia es improbable, en base a la información facilitada. Contiene sustancias nocivas para el entorno o no degradables en las estaciones de tratamiento de aguas residuales.

12.3. Potencial de bioacumulación

La bioacumulación es improbable

Componente	log Pow	Factor de bioconcentración (FBC)
Triclorometano	2	13
1-Penteno	2.66	No hay datos disponibles

12.4. Movilidad en el suelo

El producto contiene compuestos orgánicos volátiles (COV) que se evaporan fácilmente a partir de todas las superficies. Probablemente será móvil en el medio ambiente debido a su volatilidad. Se disipa rápidamente en el aire

12.5. Resultados de la valoración PBT y mPmB

No hay datos disponibles para la evaluación.

12.6. Otros efectos adversos

Información del alterador del sistema endocrino

Este producto no contiene ningún alterador del sistema endocrino conocido o sospechoso de serlo

Contaminantes Orgánicos Persistentes

Este producto no contiene ningún conocido o sospechado sustancia

Potencial de reducción de ozono

Este producto no contiene ningún conocido o sospechado sustancia

SECCIÓN 13: CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELIMINACIÓN

13.1. Métodos para el tratamiento de residuos

Desechos de residuos / producto no utilizado

Los desechos están clasificados como peligrosos. Dispóngase de acuerdo a las Directivas Europeas sobre desechos y desechos peligrosos. Eliminar de conformidad con las normativas locales.

FSUC4960

Página 10 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

Embalaje contaminado	Deshágase de este recipiente en un punto de recogida de residuos especiales o peligrosos.
Catálogo de Desechos Europeos	Según el Catálogo de Desechos Europeos, los Códigos de Desecho no son específico al producto, pero específicos a la aplicación.
Otra información	No eliminar el desecho en el alcantarillado. El usuario debe asignar códigos de residuos basándose en la aplicación para la que se utilizó el producto. No tirar los residuos por el desagüe.

SECCIÓN 14: INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE

IMDG/IMO

14.1. Número ONU	UN1888
14.2. Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas	Cloroformo
14.3. Clase(s) de peligro para el transporte	6.1
14.4. Grupo de embalaje	III

ADR

14.1. Número ONU	UN1888
14.2. Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas	Cloroformo
14.3. Clase(s) de peligro para el transporte	6.1
14.4. Grupo de embalaje	III

IATA

14.1. Número ONU	UN1888
14.2. Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas	Cloroformo
14.3. Clase(s) de peligro para el transporte	6.1
14.4. Grupo de embalaje	III

14.5. Peligros para el medio ambiente No hay peligros identificados

14.6. Precauciones particulares para los usuarios No se requieren precauciones especiales

14.7. Transporte a granel con arreglo al anexo II del Convenio Marpol 73/78 y del Código IBC No aplicable, productos envasados

SECCIÓN 15: INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

15.1. Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

Inventarios internacionales X = enumeran

Componente	EINECS	ELINCS	NLP	TSCA	DSL	NDL	PICCS	ENCS	IECSC	AICS	KECL
Triclorometano	200-663-8	-		X	X	-	X	X	X	X	X
1-Penteno	203-694-5	-		X	X	-	X	X	X	X	X

FSUC4960

Página 11 / 13

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

Nota Se utiliza amileno como estabilizante, pero hay constancia de que puede no evitar la generación de fosgeno. El cloroformo estabilizado con amileno debe ensayarse para determinar su contenido en fosgeno.

Componente	REACH (1907/2006) - Anexo XIV - sustancias sujetas a autorización	REACH (1907/2006) - Anexo XVII - Restricciones a la utilización de determinadas sustancias peligrosas	REACH Regulation (EC 1907/2006) article 59 - Candidate List of Substances of Very High Concern (SVHC)
Triclorometano		Use restricted. See item 32. (see http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32006R1907:EN:NOT for restriction details)	

Reglamentos nacionales

Componente	Alemania Clasificación de las Aguas (VwVwS)	Alemania - TA-Luft Class
Triclorometano	WGK 2	Class I : 20 mg/m ³ (Massenkonzentration)
1-Penteno	WGK 2	

Componente	Francia - INRS (cuadros de enfermedades profesionales)
Triclorometano	Tableaux des maladies professionnelles (TMP) - RG 12

Tomar nota de la Directiva 94/33/CEE sobre la protección laboral de los jóvenes
Observar la Directiva 92/85/CE relativa a la protección de las mujeres embarazadas y lactantes en el trabajo

15.2. Evaluación de la seguridad química

Un Seguridad Química Evaluación / Informe (CSA / CSR) no se ha llevado a cabo

SECCIÓN 16: OTRA INFORMACIÓN

Texto completo de las indicaciones H mencionadas en las secciones 2 y 3

H302 - Nocivo en caso de ingestión
H332 - Nocivo en caso de inhalación
H315 - Provoca irritación cutánea
H319 - Provoca irritación ocular grave
H351 - Se sospecha que provoca cáncer
H361d - Se sospecha que dañar el feto
H336 - Puede provocar somnolencia o vértigo
H372 - Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas
H224 - Líquido y vapores extremadamente inflamables
H304 - Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias
H331 - Tóxico en caso de inhalación
H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos

Leyenda

CAS - Chemical Abstracts Service

EINECS/ELINCS : Inventario europeo de sustancias químicas comercializadas existentes/Lista europea de sustancias químicas notificadas

PICCS - Inventario de productos químicos y sustancias químicas de Filipinas

IECSC - Inventario chino de sustancias químicas existentes

TSCA - Ley de control de sustancias tóxicas (Toxic Substances Control Act) estadounidense, apartado 8(b), Inventario

DSL/NDL - Lista de sustancias domésticas/no domésticas de Canadá

ENCS - Inventario japonés de sustancias químicas existentes y nuevas

AICS - Inventario australiano de sustancias químicas (Australian Inventory of Chemical Substances)

FSUC4960

Página 12 / 13



FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Cloroformo

Fecha de revisión 09-mar-2018

KECL - Sustancias químicas existentes y evaluadas de Corea

NZIoC - Inventario de productos químicos de Nueva Zelanda

WEL - Límites de exposición profesionales

ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists (Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales)

DNEL - Nivel obtenido sin efecto

RPE - Equipos de protección respiratoria

LC50 - Concentración letal 50%

NOEC - Concentración sin efecto observado

PBT - Persistentes, bioacumulativas, tóxicas

TWA - Tiempo Promedio Ponderado

IARC - Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer

PNEC - Concentración prevista sin efecto

LD50 - Dosis Letal 50%

EC50 - Concentración efectiva 50%

POW - Coeficiente de reparto octanol: agua

vPvB - Muy persistente y muy bioacumulable

ADR - Acuerdo europeo sobre el transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera

IMO/IMDG - International Maritime Organization/International Maritime Dangerous Goods Code

OECD - Organización para la Cooperación y el Desarrollo

BCF - Factor de bioconcentración (FBC)

Bibliografía fundamental y fuentes de datos

Los proveedores de datos de seguridad,

ChemADVISOR - LOLI,

Merck Index,

RTECS

ICAO/IATA - International Civil Aviation Organization/International Air Transport Association

MARPOL - Convenio Internacional para Prevenir la Contaminación por los Buques

ATE - Estimación de la toxicidad aguda

100

Consejo de formación

Formación de concienciación sobre peligros químicos, cubriendo etiquetado, fichas de datos de seguridad, equipos de protección personal e higiene.

Uso de equipos de protección personal, cubriendo su correcta selección, compatibilidad, umbrales de penetración, cuidados, mantenimiento, ajuste y estándares EN.

Primeros auxilios pertinentes a la exposición a productos químicos, incluido el uso de estaciones de lavado de ojos y duchas de seguridad.

Formación en respuesta a incidentes químicos.

Prevención y lucha contra incendios, identificando peligros y riesgos, electricidad estática y atmósferas explosivas que presentan los vapores y polvos.

Fecha de preparación 20-oct-2009

Fecha de revisión 09-mar-2018

Resumen de la revisión Secciones de la FDS actualizadas, 9.

Descargo de responsabilidad

La información facilitada en esta Ficha de Datos de Seguridad es correcta, a nuestro leal saber y entender, en la fecha de su publicación. Dicha información está concebida únicamente como guía para la seguridad en la manipulación, el uso, el procesamiento, el almacenamiento, el transporte, la eliminación y la liberación, no debiendo tomarse como garantía o especificación de calidades. La información se refiere únicamente al material específico mencionado y puede no ser válida para tal material usado en combinación con cualesquiera otros materiales o en cualquier proceso salvo que se especifique expresamente en el texto

Fin de la ficha de datos de seguridad

FSUC4960

Página 13 / 13

Anexo A.3 – PEG10000

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.0 Fecha de revisión 08.06.2012

Fecha de impresión 01.05.2018

1. IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O LA MEZCLA Y DE LA SOCIEDAD O LA EMPRESA

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Polietilenglicol 10000

Referencia : 81280

Marca : Sigma-Aldrich

No. CAS : 25322-68-3

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.
Esta sustancia no está clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.

2.2 Elementos de la etiqueta

El producto no necesita ser etiquetado de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea ó las respectivas leyes nacionales.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

3. COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

3.1 Sustancias

Sinónimos : PEG

Formula : (C₂H₄O)_nH₂O

4. PRIMEROS AUXILIOS

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

sin datos disponibles

5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono

Se desconoce la naturaleza de los productos de la descomposición.

Óxidos de carbono

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

sin datos disponibles

6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

7.3 Usos específicos finales

sin datos disponibles

8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/ PROTECCIÓN INDIVIDUAL

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Procedimiento general de higiene industrial.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser controlados antes de la utilización. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección de inmersión

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0,11 mm

Tiempo de perforación: > 480 min

Material probado: Dermatrill® (Aldrich Z677272, Talla M)

Protección contra salpicaduras

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0,11 mm

Tiempo de perforación: > 30 min

Material probado: Dermatrill® (Aldrich Z677272, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 873000, e-mail

sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación tiene carácter meramente consultivo y debe ser evaluado por un Higienista Industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: sólido
b) Olor	sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	sin datos disponibles
d) pH	sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Punto/intervalo de fusión: 62 - 65 °C
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	sin datos disponibles
g) Punto de inflamación	sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido,	sin datos disponibles

Sigma-Aldrich - 81280

Página 3 de 6

gas)	
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	sin datos disponibles
k) Presión de vapor	sin datos disponibles
l) Densidad de vapor	sin datos disponibles
m) Densidad relativa	sin datos disponibles
n) Solubilidad en agua	sin datos disponibles
o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	sin datos disponibles
p) Temperatura de auto-inflamación	sin datos disponibles
q) Temperatura de descomposición	sin datos disponibles
r) Viscosidad	sin datos disponibles
s) Propiedades explosivas	sin datos disponibles
t) Propiedades comburentes	sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
sin datos disponibles

10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

10.1 Reactividad
sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química
sin datos disponibles

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas
sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse
sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles
Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos
Otros productos de descomposición peligrosos - sin datos disponibles

11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda
DL50 Oral - rata - 50.000 mg/kg
Observaciones: Riñones, Uréteres y Vejiga Urinaria: Otras alteraciones

Corrosión o irritación cutáneas
sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves
sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea
sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales
sin datos disponibles

Sigma-Aldrich - 81280

Página 4 de 6

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

sin datos disponibles

Peligro de aspiración

sin datos disponibles

Efectos potenciales sobre la salud

Inhalación

Puede ser nocivo si se inhala. Puede provocar una irritación en el tracto respiratorio.

Ingestión

Puede ser nocivo si es tragado.

Piel

Puede ser nocivo si es absorbido por la piel. Puede provocar una irritación de la piel.

Ojos

Puede provocar una irritación en los ojos.

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

12. INFORMACIÓN ECOLÓGICA

12.1 Toxicidad

sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

sin datos disponibles

12.6 Otros efectos adversos

sin datos disponibles

13. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELIMINACIÓN

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE

14.1 Número ONU

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Not dangerous goods

IATA: Not dangerous goods

- 14.3 Clase(s) de peligro para el transporte**
ADR/RID: - IMDG: - IATA: -
- 14.4 Grupo embalaje**
ADR/RID: - IMDG: - IATA: -
- 14.5 Peligros para el medio ambiente**
ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no
- 14.6 Precauciones particulares para los usuarios**
sin datos disponibles

15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

- La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.
- 15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla**
sin datos disponibles
- 15.2 Evaluación de la seguridad química**
sin datos disponibles

16. OTRA INFORMACIÓN

Otros datos

Copyright 2012 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Anexo A.4 – PEG35000

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.1 Fecha de revisión 15.11.2011

Fecha de impresión 01.05.2018

1. IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O LA MEZCLA Y DE LA SOCIEDAD O LA EMPRESA

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Polietilenglicol 35000

Referencia : 81310
Marca : Aldrich
No. CAS : 25322-68-3

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977
Fax : +34 91 6619642
E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.
Esta sustancia no está clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.

2.2 Elementos de la etiqueta

El producto no necesita ser etiquetado de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea ó las respectivas leyes nacionales.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

3. COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

3.1 Sustancias

Sinónimos : PEG

Formula : (C₂H₄O)_nH₂O

4. PRIMEROS AUXILIOS

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.
Consultar a un médico.



En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lávese a fondo con agua abundante durante 15 minutos por lo menos y consulte al médico.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

sin datos disponibles

5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

sin datos disponibles

6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evitar respirar el polvo.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evítese la formación de polvo y aerosoles. Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

7.3 Usos específicos finales

sin datos disponibles

8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/ PROTECCIÓN INDIVIDUAL

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Gafas de seguridad con protecciones laterales conformes con la EN166 Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser controlados antes de la utilización. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

indumentaria impermeable. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Para exposiciones molestas use respirador de partículas tipo P95 (EE.UU.) o tipo P1 (UE EN 143). Para un nivel de protección mayor use cartuchos de respirador tipo OV/AG/P99 (EE.UU.) o ABEK-P2 (UE EN 143). Usar respiradores y componenets testados y aprobados bajo los standards gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Estado físico: escamas Color: blanco
b) Olor	sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	sin datos disponibles
d) pH	sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Punto/intervalo de fusión: 64 - 66 °C
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	> 200 °C
g) Punto de inflamación	229,00 °C - copa cerrada
h) Tasa de evaporación	sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	sin datos disponibles
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	sin datos disponibles
k) Presión de vapor	< 0,01 hPa a 20 °C
l) Densidad de vapor	sin datos disponibles
m) Densidad relativa	sin datos disponibles
n) Solubilidad en agua	sin datos disponibles
o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	sin datos disponibles

Aldrich - 81310

Página 3 de 6

- | | | |
|----|---------------------------------|-----------------------|
| p) | Temperatura de auto-inflamación | sin datos disponibles |
| q) | Temperatura de descomposición | sin datos disponibles |
| r) | Viscosidad | sin datos disponibles |
| s) | Propiedades explosivas | sin datos disponibles |
| t) | Propiedades comburentes | sin datos disponibles |

9.2 Otra información de seguridad
sin datos disponibles

10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

10.1 Reactividad

sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

sin datos disponibles

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Ácidos fuertes, Bases fuertes, Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - sin datos disponibles

11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

11.1 Información sobre los efectos tóxicos

Toxicidad aguda

DL50 Oral - rata - > 15.000 mg/kg

Corrosión o irritación cutáneas

Piel - conejo - Ligera irritación de la piel - 24 h

Lesiones o irritación ocular graves

Ojos - conejo - Ligera irritación en los ojos - 24 h

Sensibilización respiratoria o cutánea

sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

sin datos disponibles

Peligro de aspiración

sin datos disponibles

Efectos potenciales sobre la salud

Inhalación

Puede ser nocivo si se inhala. Puede provocar una irritación en el tracto respiratorio.

Ingestión

Puede ser nocivo si es tragado.

Piel

Puede ser nocivo si es absorbido por la piel. Puede provocar una irritación de la piel.

Ojos

Provoca una irritación en los ojos.

Signos y Síntomas de la Exposición

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

Información Adicional

RTECS: TQ3500000

12. INFORMACIÓN ECOLÓGICA

12.1 Toxicidad

sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

sin datos disponibles

12.6 Otros efectos adversos

sin datos disponibles

13. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELIMINACIÓN

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE

14.1 Número ONU

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Not dangerous goods

IATA: Not dangerous goods

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.4 Grupo embalaje

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no

IMDG Marine pollutant: no

IATA: no

Aldrich - 81310

Página 5 de 6

- 14.6 Precauciones particulares para los usuarios**
sin datos disponibles

15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

- 15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla**
sin datos disponibles

- 15.2 Evaluación de la seguridad química**
sin datos disponibles

16. OTRA INFORMACIÓN

Otros datos

Copyright 2011 Sigma-Aldrich. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. Sigma-Aldrich, no responderá por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Ver otros términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Anexo A.4 – PLA

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.2 Fecha de revisión 08.02.2016

Fecha de impresión 30.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Ácido poliláctico

Referencia : 38534

Marca : Aldrich

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 26100-51-6

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.2 Elementos de la etiqueta

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Sinónimos : Poly(2-hydroxypropionic acid)

Peso molecular : 60 kg/mol

No. CAS : 26100-51-6

Aldrich - 38534

Página 1 de 6



Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.
Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.
Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Almacenar en atmósfera inerte. Sensible a la humedad. Exposición a la humedad.
Clase alemán de almacenamiento (TRGS 510): Sólidos No Combustibles

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Procedimiento general de higiene industrial.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: sólido
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	Sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Sin datos disponibles
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Sin datos disponibles
g) Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido,	Sin datos disponibles

Aldrich - 38534

Página 3 de 6

gas)		
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad

Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

SECCIÓN 12: Información ecológica

12.1 Toxicidad

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte

14.1 Número ONU

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Not dangerous goods

IATA: Not dangerous goods

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

- 14.4 Grupo de embalaje**
 ADR/RID: - IMDG: - IATA: -
- 14.5 Peligros para el medio ambiente**
 ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no
- 14.6 Precauciones particulares para los usuarios**
 Sin datos disponibles

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

- 15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla**
 La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.
- 15.2 Evaluación de la seguridad química**
 Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16: Otra información

Otros datos

Copyright 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Anexo A.5 – BHI

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.1 Fecha de revisión 11.05.2016

Fecha de impresión 01.05.2018

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Brain Heart Infusion Broth

Referencia : 53286

Marca : Sigma-Aldrich

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Quimica, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.2 Elementos de la etiqueta

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

SECCIÓN 3. Composición/información sobre los componentes

3.2 Mezclas

Sinónimos : Brain Heart Broth
BHI Broth

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4. Primeros auxilios**4.1 Descripción de los primeros auxilios****Recomendaciones generales**

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lavar abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Por ingestión

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5. Medidas de lucha contra incendios**5.1 Medios de extinción****Medios de extinción apropiados**

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6. Medidas en caso de vertido accidental**6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia**

Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evitar respirar el polvo. Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7. Manipulación y almacenamiento**7.1 Precauciones para una manipulación segura**

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

Sigma-Aldrich - 53286

Página 2 de 7

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Conservar en un lugar seco.

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8. Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Gafas de seguridad con protecciones laterales conformes con la EN166 Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Sumerción

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0,11 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado:Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

Salpicaduras

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0,11 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado:Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 87300, e-mail

sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación es meramente aconsejable y deberá ser evaluada por un responsable de seguridad e higiene industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo., El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: polvo Color: beige
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	7,2 - 7,6 a 37 °C
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Sin datos disponibles
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Sin datos disponibles
g) Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k) Presión de vapor	Sin datos disponibles
l) Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m) Densidad relativa	Sin datos disponibles
n) Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p) Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q) Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r) Viscosidad	Sin datos disponibles
s) Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t) Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad

Sin datos disponibles

SECCIÓN 10. Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles

Productos de descomposición peligrosos formados en condiciones de incendio. - Óxidos de carbono,

Oxidos de fósforo, Gas cloruro de hidrógeno, Oxidos de sodio

En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11. Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12. Información ecológica

12.1 Toxicidad

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

La valoración de PBT / mPmB no está disponible ya que la evaluación de la seguridad química no es necesaria / no se ha realizado

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13. Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14. Información relativa al transporte

14.1 Número ONU

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Not dangerous goods

IATA: Not dangerous goods

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.4 Grupo de embalaje

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no

14.6 Precauciones particulares para los usuarios

Sin datos disponibles

SECCIÓN 15. Información reglamentaria

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

Convención Internacional sobre las Armas Químicas : No prohibido y/o restringido

(CWC) Programas sobre los Productos Químicos Tóxicos y los Precursores (Louisiana Administrative Code, Title 33, Part V Section 10101 et. seq.)

REACH - Restricciones a la fabricación, : No prohibido y/o restringido

comercialización y uso de determinadas sustancias, preparados y artículos peligrosos (Anexo XVII)

Reglamento (CE) n.º 649/2012 del Parlamento Europeo : No prohibido y/o restringido

y del Consejo relativo a la exportación e importación de productos químicos peligrosos

REACH - Lista de sustancias candidatas que suscitan : Este producto no contiene

especial preocupación para su Autorización (artículo 59).

sustancias muy preocupantes
(Reglamento (CE) No. 1907/2006
(REACH), artículo 57).

REACH - Lista de sustancias sujetas a autorización
(Anexo XIV)

: No prohibido y/o restringido

Reglamento (CE) no 1005/2009 sobre las sustancias
que agotan la capa de ozono

: No prohibido y/o restringido

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16. Otra información

Otros datos

Copyright 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Anexo A.6 – PBS

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 453/2010

Versión 5.2 Fecha de revisión 01.10.2015

Fecha de impresión 22.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Solución salina tamponada con fosfato

Referencia : P4417

Marca : Sigma

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Quimica, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtchserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.2 Elementos de la etiqueta

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.2 Mezclas

Sinónimos : PBS

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lávese a fondo con agua abundante durante 15 minutos por lo menos y consulte al médico.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Oxidos de fósforo, Gas cloruro de hidrógeno, Óxidos de potasio, Oxidos de sodio

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evitar respirar el polvo. Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evítese la formación de polvo y aerosoles. Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

Sigma - P4417

Página 2 de 6

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Clase alemán de almacenamiento (TRGS 510): Sólidos No Combustibles

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad.

Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Gafas de seguridad con protecciones laterales conformes con la EN166 Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

Indumentaria impermeable, El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Para exposiciones molestas use respirador de partículas tipo P95 (EE.UU.) o tipo P1 (UE EN 143). Para un nivel de protección mayor use cartuchos de respirador tipo OV/AG/P99 (EE.UU.) o ABEK-P2 (UE EN 143). Usar respiradores y componenets testados y aprobados bajo los standards gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- | | |
|-----------------------------------------------|-----------------------|
| a) Aspecto | Forma: sólido |
| b) Olor | Sin datos disponibles |
| c) Umbral olfativo | Sin datos disponibles |
| d) pH | 7,2 - 7,6 a 25 °C |
| e) Punto de fusión/ punto de congelación | Sin datos disponibles |
| f) Punto inicial de ebullición e intervalo de | Sin datos disponibles |

	ebullición	
g)	Punto de inflamación	No aplicable
h)	Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i)	Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes, Ácidos fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Cutáneo: Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Sigma - P4417

Página 4 de 6

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

Vómitos, Diarrea, Una deshidratación y una congestión pueden ocurrir en los órganos internos. Las soluciones de sal hipertónicas pueden producir reacciones inflamatorias en el aparato gastrointestinal., Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12: Información ecológica

12.1 Toxicidad

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

ADR/RIP: - IMDG: - IATA: -

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Not dangerous goods
IATA: Not dangerous goods

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no

Sin datos disponibles

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 453/2010.

Sin datos disponibles

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

Otros datos

Copyright 2015 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Anexo A.6 – Staphylococcus aureus

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006
Versión 5.1 Fecha de revisión 06.01.2015
Fecha de impresión 30.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : *Staphylococcus aureus*

Referencia : S2014

Marca : Sigma

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtchserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

Clasificación de acuerdo con las Directivas de la UE 67/548/CEE ó 1999/45/CE

Xn Nocivo R21/22

El texto completo de las frases R mencionadas en esta Sección, se indica en la Sección 16.

2.2 Elementos de la etiqueta

De acuerdo con la Directiva Europea 67/548/CEE, y sus enmiendas.

Símbolo(s) de peligrosidad Xn Nocivo



Frase(s) - R
R21/22

Nocivo en contacto con la piel y por ingestión.

Frase(s) - S
S36/37

Úsense indumentaria y guantes de protección adecuados.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.2 Mezclas

Ingredientes peligrosos de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1272/2008

Componente	Clasificación	Concentración
Sodium azide		
No. CAS	26628-22-8	Acute Tox. 2; Acute Tox. 1; Aquatic Acute 1; Aquatic Chronic 1; H300 + H310, H410. EUH032
No. CE	247-852-1	
No. Índice	011-004-00-7	
>= 0,1 - < 0,25 %		

Ingrediente peligroso según la Directiva 1999/45/CE

Componente	Clasificación	Concentración
Sodium azide		
No. CAS	26628-22-8	T+, N, R27 - R28 - R32 - R50/53
No. CE	247-852-1	
No. Índice	011-004-00-7	
		>= 0,1 - < 0,25 %

Para el texto completo de las frases de Riesgo y Seguridad mencionadas en esta Sección, ver la Sección 16

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.
Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Sin datos disponibles

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado. Los contenedores que se abren deben volverse a cerrar cuidadosamente y mantener en posición vertical para evitar pérdidas.

Temperatura de almacenaje recomendada 2 - 8 °C

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

Componente	No. CAS	Valor	Parámetros de control	Base
Sodium azide	26628-22-8	TWA	0,1 mg/m3	Directiva 2000/39/CE de la Comisión por la que se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos
	Observaciones	Identifica la posibilidad de una absorción importante a través de la piel Indicativo		
		STEL	0,3 mg/m3	Directiva 2000/39/CE de la Comisión por la que se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos
		Identifica la posibilidad de una absorción importante a través de la piel Indicativo		
		VLA-ED	0,1 mg/m3	Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos - Tabla 1: Límites Ambientales de exposición profesional
		Vía dérmica Agente químico para el que la U.E. estableció en su día un valor límite indicativo. Todos estos agentes químicos figuran al menos en una de las directivas de valores límite indicativos publicadas hasta ahora (ver Anexo C. Bibliografía). Los estados miembros disponen de un tiempo fijado en dichas directivas para su trasposición a los		

Sigma - S2014

Página 3 de 8

		valores límites de cada país miembro. Una vez adoptados, estos valores tienen la misma validez que el resto de los valores adoptados por el país.
	VLA-EC	0,3 mg/m3
		Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos - Tabla 1: Límites Ambientales de exposición profesional
		Vía dérmica Agente químico para el que la U.E. estableció en su día un valor límite indicativo. Todos estos agentes químicos figuran al menos en una de las directivas de valores límite indicativos publicadas hasta ahora (ver Anexo C. Bibliografía). Los estados miembros disponen de un tiempo fijado en dichas directivas para su trasposición a los valores límites de cada país miembro. Una vez adoptados, estos valores tienen la misma validez que el resto de los valores adoptados por el país.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

indumentaria impermeable. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Donde el asesoramiento de riesgo muestre que los respiradores purificadores de aire son apropiados, usar un respirador que cubra toda la cara con combinación multi-proposito (EEUU) o tipo ABEK (EN 14387) respiradores de cartucho de respuesta para controles de ingeniería. Si el respirador es la única protección, usar un respirador suministrado que cubra toda la cara Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- | | |
|------------------------------------------|-----------------------|
| a) Aspecto | Forma: suspensión |
| b) Olor | Sin datos disponibles |
| c) Umbral olfativo | Sin datos disponibles |
| d) pH | Sin datos disponibles |
| e) Punto de fusión/ punto de congelación | Sin datos disponibles |

f)	Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Sin datos disponibles
g)	Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h)	Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i)	Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12: Información ecológica

12.1 Toxicidad

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

La valoración de PBT / mPmB no está disponible ya que la evaluación de la seguridad química no es necesaria / no se ha realizado

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte

14.1 Número ONU		
ADR/RID: 3373	IMDG: 3373	IATA: 3373
14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas		
ADR/RID: SUSTANCIA BIOLÓGICA, CATEGORÍA B		
IMDG: BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B		
IATA: Biological substance, Category B		
14.3 Clase(s) de peligro para el transporte		
ADR/RID: 6.2	IMDG: 6.2	IATA: 6.2 (UN33)
14.4 Grupo de embalaje		
ADR/RID: -	IMDG: -	IATA: -
14.5 Peligros para el medio ambiente		
ADR/RID: no	IMDG Marine pollutant: no	IATA: no
14.6 Precauciones particulares para los usuarios		
Sin datos disponibles		

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16: Otra información

Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.

Acute Tox.	Toxicidad aguda
Aquatic Acute	Toxicidad acuática aguda
Aquatic Chronic	Toxicidad acuática crónica
EUH032	En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.
H300 + H310	Mortal en caso de ingestión o en contacto con la piel
H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

El texto completo de las frases-R referidas en los puntos 2 y 3

N	Peligroso para el medio ambiente
R21/22	Nocivo en contacto con la piel y por ingestión.
R27	Muy tóxico en contacto con la piel.
R28	Muy tóxico por ingestión.
T+	Muy tóxico
R32	En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.
R50/53	Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.

Otros datos

Copyright 2014 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación

Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.
